

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Monika Gregová

**VLIV REDUKČNÍ DIETY A FARMAKOLOGICKÝCH
INTERVENČÍ NA METABOLIZMUS TUKOVÉ TKÁNĚ U
PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 2. TYPU A OBEZITOU**

**The influence of very-low calorie diet and pharmacologic
interventions on adipose tissue metabolism in patients with type 2
diabetes mellitus and obesity**

Dizertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Martin Haluzík, DrSc.

Praha 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 21.8.2017

Monika Gregová

Podpis

Identifikační záznam:

GREGOVÁ, Monika. *Vliv redukční diety a farmakologických intervencí na metabolismus tukové tkáně u pacientů s diabetes mellitus 2. typu a obezitou. [The influence of very-low calorie diet on adipose tissue metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus and obesity]*. Praha, 2017. 151 stran. Přílohy 2. Dizertační práce (Ph. D). Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Revmatologický ústav Praha. Vedoucí práce Haluzík, Martin.

OBSAH

PODĚKOVÁNÍ.....	7
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	8
ABSTRAKT (CZ).....	11
ABSTRACT (EN).....	12
1 ÚVOD.....	13
1.1 Epidemiologie obezity a diabetes mellitus 2. typu.....	13
1.2 Etiopatogeneze diabetes mellitus 2. typu.....	15
2 TUKOVÁ TKÁŇ.....	15
2.1 Hnědá tuková tkáň.....	15
2.2 Bílá tuková tkáň.....	17
2.3 Funkce a morfologie tukové tkáně dle lokalizace.....	17
2.4 Adipokiny.....	18
2.4.1 Leptin.....	18
2.4.2 Adiponektin.....	19
2.4.3 Resistin.....	20
2.4.4 Visfatin.....	20
2.4.5 Omentin.....	21
2.4.5.1 Omentin a metabolismus.....	22
2.4.5.2 Omentin a kardiovaskulární systém.....	22
2.4.6 Další adipokiny.....	23
2.5 Prozánětlivé cytokiny.....	24
2.5.1 Původ prozánětlivých cytokinů v tukové tkáni.....	25

2.5.1.1 Makrofágy v subklinickém zánětu.....	25
2.5.1.1.1 Původ makrofágů tukové tkáně.....	26
2.5.1.1.2 Fenotypizace makrofágů tukové tkáně.....	27
2.5.1.1.3 Rozmístění M1 a M2 makrofágů v tukové tkáni.....	28
2.5.1.1.4 Faktory podporující diferenciaci M1/M2 makrofágů.....	29
2.5.1.1.5 Infiltrace tukové tkáně makrofágy.....	30
2.5.1.1.6 Chemotaktické faktory v náboru makrofágů	31
2.5.1.1.7 Další faktory podporující infiltraci tukové tkáně makrofágy.....	32
2.5.1.2 Ostatní imunokompetentní buňky v tukové tkáni.....	33
2.5.1.2.1 Buňky vrozené imunity.....	34
2.5.1.2.2 Buňky získané imunity.....	35
2.5.2 TNF- α	36
2.5.3 IL-6.....	37
3 ÚLOHA MITOCHONDRIÍ V PATOGENEZI OBEZITY A DIABETES MELLITUS 2. TYPU.....	38
3.1 Mitochondrie.....	38
3.2 Fyziologie mitochondrií.....	38
3.2.1 Mitochondrie a vznik reaktivních forem kyslíku.....	41
3.3 Patofyziologie mitochondrií – mitochondriální dysfunkce v tukové tkáni.....	42
3.3.1 Zvýšená tvorba reaktivních forem kyslíku.....	43
3.3.2 Stres endoplazmatického retikula.....	44
3.4 Mitochondriální biogeneze a diferenciaci adipocytů.....	45
3.5 Mitochondriální dysfunkce v elementech periferní krve.....	46

4 STŘEVNÍ MIKROBIOM V PATOGENEZI OBEZITY A DIABETES MELLITUS 2. TYPU.....	47
5 OVLIVNĚNÍ FUNKCE TUKOVÉ TKÁNĚ.....	48
5.1 Nefarmakologické intervence.....	48
5.2 Farmakologické intervence.....	50
6 HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE.....	52
7 METODIKA STUDIÍ.....	53
8 VLASTNÍ VÝSLEDKY.....	58
8.1 Sérové koncentrace a mRNA exprese omentinu v podkožní tukové tkáni u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu: vliv nízkokalorické diety, fyzické aktivity a laparoskopické tubulizace žaludku.....	58
8.2 Vliv nízkokalorické diety na mitochondriální dysfunkci v podkožní tukové tkáni a v periferních monocitech u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu.....	60
9 DISKUZE.....	62
10 ZÁVĚR A SHRUTÍ VÝSLEDKŮ PRÁCE.....	69
11 SEZNAM LITERATURY.....	71
12 PŘÍLOHY.....	104
12.1 Plné texty vlastních publikací tvořící podklady dizertační práce.....	104
12.2 Další publikace.....	104

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla v rámci doktorského studijního programu v biomedicině na III. interní klinice 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Největší poděkování patří mému školiteli prof. MUDr. Martinu Haluzíkovi DrSc. za vynikající vedení po celou dobu studia, ochotu a podporu k dokončení práce po změně pracoviště a všestrannou pomoc při tvorbě dizertační práce. Dále bych ráda poděkovala všem laboratorním a dalším spolupracovníkům za pomoc při práci na studiích sloužících jako podklad dizertační práce. Můj dík patří i prof. MUDr. Karlu Pavelkovi DrSc., přednostovi Kliniky revmatologie 1. LF UK, který mi umožnil dokončit studium a projekty započaté na III. interní klinice 1. LF UK a VFN. V neposlední řadě bych ráda poděkovala mému manželovi a rodině za trpělivost a veškerou podporu v průběhu celého studia.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AdipoR	adiponektinový receptor
ADRF	adipocyte-derived relaxing factor
AIM	apoptosis inhibitor of macrophage
AKT	proteinkináza B
AMP	adenozinmonofosfát
ANOVA	analýza rozptylu (analysis of variance)
ATM	makrofágy tukové tkáně (adipose tissue macrophages)
ATP	adenosin-tri-fosfát
BAT	hnědá tuková tkáň (brown adipose tissue)
BMI	index tělesné hmotnosti (body mass index)
CART	cocaine-amphetamine-regulated transcript
CCL	CC chemokin
CCR	CC chemokinový receptor
CD	cluster of differentiation
COX	cytochrom-c oxidáza
CRP	C reaktivní protein (C reactive protein)
hsCRP	vysoce senzitivní C reaktivní protein (high sensitivity CRP)
CS	citrát syntáza
CSF	kolonie stimulující faktor (colony stimulating factor)
CTRP	C1q/TNF-related protein
CX3CL	CX3C chemokin
CXCL	CXC chemokin
DHA	kyselina dokosaheptaenová
DLAT	dihydrolipoát-S-acetyltransferáza
DM	diabetes mellitus
DM 2. typu	diabetes mellitus 2. typu
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EDTA	etyléndiamintetraoctová kyselina
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EPA	kyselina eikosapentaenová
ER	endoplazmatické retikulum
FAD	flavinadenindinukleotid
FFA	volné mastné kyseliny (free fatty acids)
GLP	glukoagonu podobný peptid (glucagon-like peptide)
GLUT	glukózový transporter
HbA1c	glykovaný hemoglobin
HDL	high-density lipoprotein
HIF	hypoxia-inducible factor
HMW	vysokomolekulární (high molecular weight)
HO	hem oxygenáza
HOMA	homeostasis model assessment

HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography)
ICAM	intercellular adhesion molecule
IDF	International Diabetes Federation
ICHs	ischemická choroba srdeční
IKK	I κ B kináza
IL	interleukin
INF	interferon
iNOS	inducibilní NO syntáza (inducible nitric oxid synthase)
IR	inzulínová rezistence
iR	inzulínový receptor
IRS	substrát inzulínového receptoru (insulin receptor substrate)
JAK	Janus kináza
JNK1	c-Jun N-terminální kináza
LCN2	lipocalin 2
LDL	low-density lipoprotein
LepR	leptinový receptor
LPS	lipopolysacharidy
LSG	laparoskopická tubulizace žaludku (laparoscopic sleeve gastrectomy)
LTB	leukotrien B
Mac	macrophage antigen
MCP	monocyte chemoattractant protein
MIF	macrophage migration inhibitory factor
MIP	macrophage inflammatory protein
mRNA	messengerová RNA
mtDNA	mitochondriální DNA
MTND5	mitochondriálně kódovaná NADH dehydrogenáza 5
NAD	nikotinamid adenin dinukleotid
NADH	nikotinamid adenin dinukleotid, redukovaná forma
NAMPT	nikotinamid fosforibozyl-transferáza
NCCR	NADH-cytochrom-c reduktáza
NDUFA12	alfa 1 podkomplex 12 NADH dehydrogenázy
NF κ B	nukleární faktor kappa B
NK	přírození zabíječi (natural killer)
NKT	natural killer T-lymphocytes
NO	oxid dusnatý
NQR	NADH-koenzym Q ₁₀ reduktáza
OXPHOS	oxidativní fosforylace (oxidative phosphorylation)
PAI	inhibitor aktivátoru plasminogenu (plasminogen aktivátor inhibitor)
PBEF	pre-B-cell colony-enhancing factor
PBS	phosphate buffered saline (fyziologický roztok pufovaný fosfátem)
PDH	pyruvát dehydrogenáza
PDK	kináza pyruvát dehydrogenáza (pyruvate dehydrogenase kinase)
PET/CT	pozitron emisní tomografie/počítačová tomografie

PI3K	fosfatidylinozitol-3-kináza
PM	periferní monocyty
PPAR	receptor aktivovaný peroxizomovými proliferátory (peroxisome proliferator activated receptor)
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny (polyunsaturated fatty acids)
RBP4	retinol-binding protein 4
RELMs	resistin-like molecules
RNA	ribonukleová kyselina
RNS	reaktivní formy dusíku (reactive nitrogen species)
ROS	volné kyslíkové radikály (reactive oxygene species)
RONS	reaktivní formy dusíku a kyslíku
SAA3	sérový amyloid A3
SCAT	podkožní tuková tkáň
SDHA	podjednotka A sukcinát dehydrogenázy
SEM	střední chyba průměru (standard error of the mean)
SFRP5	secreted frizzled-related protein 5
SOCS3	supresor 3 cytokinové signalizace (supressor of cytokine signaling-3)
SOD	superoxiddizmutáza
SQR	sukcinát-koenzym Q ₁₀ oxidoreduktáza
STAT	transducery signálu a aktivátory transkripce (signal transducers and activators of transcription)
TGF-β	transformační růstový faktor beta
T _H	T pomocné lymfocyty (T helper cells)
TLR	Toll-like receptory
TNF-α	tumor nekrotizující faktor alfa (tumor necrosis factor alpha)
TNFR1	podtyp 1 receptoru pro tumor nekrotizující faktor
T _{reg}	T regulační lymfocyty
UFA	nenasycené mastné kyseliny (unsaturated fatty acids)
UCP	odpřahující protein (uncoupling protein)
VAT	viscerální tuková tkáň
VCAM	vascular cell adhesion molecule
VEGF	vascular endothelial growth factor
VLCD	nízkokalorická dieta (very-low-calorie diet)
WAT	bílá tuková tkáň (white adipose tissue)
WHO	Světová zdravotnická organizace (World Health Organisation)
WT	divoký typ (wild type)

ABSTRAKT (CZ)

Obezita a diabetes mellitus 2. typu (DM 2. typu) patří mezi metabolická onemocnění se stále vzrůstající incidencí a prevalencí. V posledním desetiletí probíhá intenzivní výzkum soustředěný na objasnění patofyziologických mechanismů vedoucích k rozvoji těchto onemocnění. Vedle faktorů vnějších, jakými jsou životní styl a skladba a množství přijímané potravy, hraje klíčovou roli v patogenezi obezity a jejích metabolických komplikací včetně inzulinové rezistence (IR) a DM 2. typu tuková tkáň. Cílem naší práce bylo hlouběji prozkoumat možnou úlohu recentně popsaného adipokinu omentinu a dále zhodnotit úlohu poruchy mitochondriální funkce v podkožní tukové tkáni (SCAT) a periferních monocytech (PM) při rozvoji inzulinové rezistence a diabetu u pacientů s obezitou a DM 2. typu.

Do studie bylo celkem zařazeno 118 jedinců rozdělených do 3 skupin: pacienti s obezitou a diabetes mellitus 2. typu (T2DM), skupina pacientů s prostou obezitou (OB) a zdravé štíhlé subjekty jako kontrolní skupina (KO). Studijní subjekty podstoupily několik typů intervencí – 2 až 3 týdny nízkokalorické diety (VLCD, denní příjem 600 kcal), program pravidelné fyzické aktivity nebo bariatrický výkon (laparoskopická tubulizace žaludku, laparoscopic sleeve gastrectomy, LSG). Dosažené výsledky poukazují na možnou spoluúčast nízkých sérových koncentrací omentinu na rozvoji metabolických komplikací obezity. Pozitivní vliv LSG na tělesnou hmotnost a metabolický profil pacientů může být částečně zprostředkovan vzestupem hladin tohoto adipokinu. Dále jsme ukázali, že pacienti s obezitou a DM 2. typu mají mitochondriální dysfunkci ve SCAT a částečně i v PM, přičemž VLCD nevedla k zásadnímu zlepšení této dysfunkce.

Intervence vedoucí ke zvýšení hladin omentinu a ovlivnění mitochondriální dysfunkce by mohly přispět k prevenci vzniku DM 2. typu, případně ke zlepšení kompenzace již existujícího diabetu.

Klíčová slova: obezita, diabetes mellitus 2. typu, nízkokalorická dieta, omentin, mitochondriální dysfunkce, laparoskopická tubulizace žaludku

ABSTRACT (EN)

Obesity and type 2 diabetes mellitus (T2DM) are among metabolic disease with increasing incidence and prevalence. Last decade has been devoted to intensive research focused on pathophysiological mechanisms underlying development of these diseases. Besides environmental factors, lifestyle and amount and composition of food, adipose tissue is a key player in the pathogenesis of obesity and its metabolic complications including insulin resistance (IR) and T2DM. Primary aim of our work was to evaluate the role of recently discovered adipokine omentin and the role of mitochondrial dysfunction in subcutaneous adipose tissue (SCAT) and in peripheral monocytes (PM) in patients with obesity and T2DM with respect to the development of insulin resistance and diabetes.

A total number of 118 subjects enrolled in the study were divided into three groups: patients with obesity and T2DM (T2DM group), obese non-diabetics (OB) and healthy lean subjects as a control group (KO). Study subjects underwent several types of interventions – 2 to 3 weeks of very-low calorie diet (VLCD, energy intake 600 kcal per day), regular physical activity program or bariatric surgery (laparoscopic sleeve gastrectomy, LSG). Results indicate that low serum omentin concentrations may contribute to development of obesity-associated metabolic complications. Positive influence of LSG on body weight and patients metabolic profile can be partially mediated by increase in serum concentrations of this adipokine. Furthermore, we have demonstrated that patients with obesity and T2DM have mitochondrial dysfunction in SCAT and partly in PM which was not substantially improved by VLCD.

Interventions leading to increased omentin concentrations and to amelioration of mitochondrial dysfunction may contribute to prevention of T2DM or improvement of preexisting diabetes compensation.

Key words: obesity, type 2 diabetes mellitus, very-low calorie diet, omentin, mitochondrial dysfunction, laparoscopic sleeve gastrectomy.

1 ÚVOD

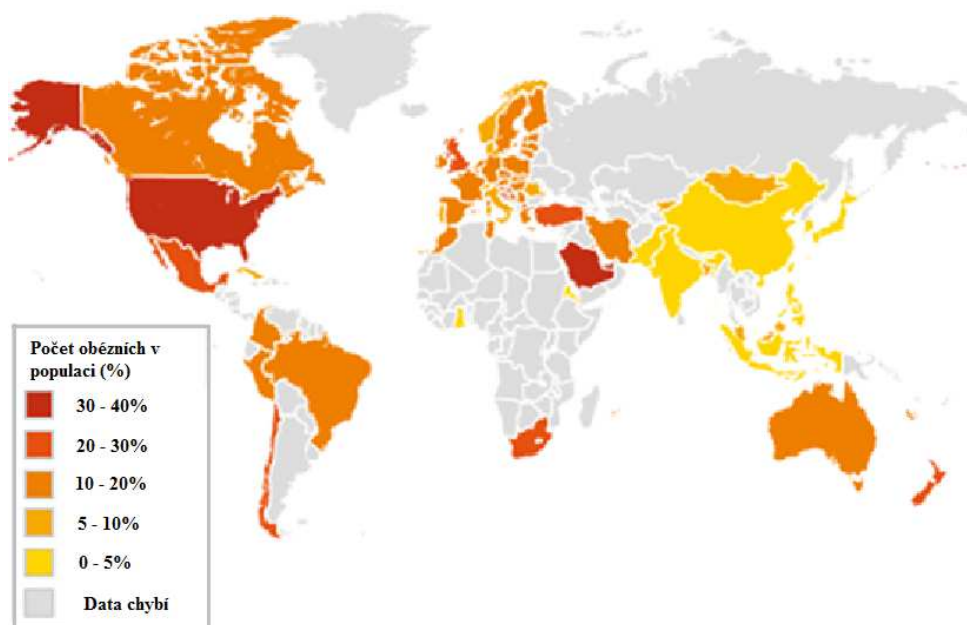
Incidence metabolických onemocnění, mezi které se řadí obezita, diabetes mellitus 2. typu (DM 2. typu), poruchy metabolismu lipidů, ateroskleróza a kardiovaskulární onemocnění, je v posledních desetiletích na významném vzestupu. V celosvětovém měřítku se hovoří o nastupující epidemii až pandemii obezity a diabetes mellitus 2. typu s rozsáhlými zdravotními a socioekonomickými důsledky pro celou populaci (Finucane et al., 2011). Dalším vážným problémem je přesun onemocnění na mladší věkové skupiny - děti a dospívající. Tyto skutečnosti podnítily v posledních desetiletích rozsáhlé výzkumné úsilí, které je zaměřené na hlubší pochopení vzniku a možného léčebného ovlivnění inzulinové rezistence (IR), klíčového momentu v etiopatogenezi DM 2. typu se všemi jeho komplikacemi. Patogeneze vzniku IR je velice složitá a z velké části stále nejasná. Známý je podíl environmentálních faktorů, jakými je nedostatek fyzické aktivity, zvýšený příjem energeticky bohaté potravy s vysokým zastoupením nasycených mastných kyselin a volných sacharidů, svou úlohu má i genetická výbava organismu. Významnou roli ve vzniku inzulinové rezistence hraje tuková tkáň. Tuková tkáň, zejména viscerální tuková tkáň (VAT), poruchy jejího metabolismu a subklinický zánět jsou považovány za významný faktor podílející se na rozvoji inzulinové rezistence, DM 2. typu a jeho komplikací. VAT je místem tvorby celé řady působků, tzv. adipokinů, a prozánětlivých cytokinů, které jsou dávány do přímé souvislosti se vznikem IR a nepřímo i s DM 2. typu (Blüher, 2009). Dalším z faktorů ovlivňujících vznik IR a také funkci pankreatických β -buněk je mitochondriální oxidační kapacita těchto buněk, tukové tkáně a také kosterního svalu (Szendroedi et al., 2011). Mitochondrie jsou také hlavními producenty volných kyslíkových radikálů v organismu. Při poruše jejich funkce, tzv. mitochondriální dysfunkci, dochází ke zvýšené produkci volných radikálů a výrazně se tak zvyšuje oxidační stres, který ovlivňuje procesy celého organismu (Bashn et al., 2009; Sakai et al., 2003). Nejvíce postižené jsou však buňky s velkou metabolickou aktivitou, mezi které patří i β -buňky pankreatu, místo produkce inzulinu.

1.1 Epidemiologie obezity a diabetes mellitus 2. typu

Celosvětově je zaznamenán nárůst pacientů jak s obezitou, tak s diabetes mellitus 2. typu. Obezita je Světovou zdravotnickou organizací definována jako abnormální nebo excesivní akumulace tukových zásob, která je zdraví škodlivá (WHO). Numericky je obezita klasifikována jako index tělesné hmotnosti (body mass index, BMI) vyšší než 30kg/m^2 . V roce 2014 byl počet dospělých obézních jedinců dle WHO odhadován na více než půl

miliardy (přibližně 13% dospělé světové populace), z čehož bylo asi 205 milionů mužů (11%) a 297 milionů žen (15%). V roce 2015 mělo více než 42 milionů dětí mladších 5ti let nadváhu nebo obezitu. V průběhu posledních 30ti let došlo ke zdvojnásobení počtu dospělých obézních jedinců, v roce 1980 bylo obézních 5% mužů a 8% žen. Země Severní a Jižní Ameriky jsou regiony s největší prevalencí obezity celosvětově, nejnižší prevalence je pak v regionech Jihovýchodní Asie, kde jsou pouze 3% obézních (Obrázek 1). V souvislosti s nadváhou a obezitou je každoročně spjato více než 2.8 milionu úmrtí dospělých jedinců (WHO). Ve Spojených státech amerických byly v roce 2008 náklady na zdravotní péči spojenou s obezitou odhadovány na 147 miliard amerických dolarů ročně. Situace ohledně onemocnění DM 2. typu není o nic méně závažná. Počet diabetiků v celosvětovém měřítku překračuje hranici 400 milionů lidí, z čehož 80-95% tvoří jedinci s diabetes mellitus 2. typu (International Diabetes Federation, IDF). Je zaznamenáván stále vzrůstající trend v počtu pacientů s DM 2. typu (Danaei *et al.*, 2011). Předpokládá se, že do roku 2040 bude celosvětově počet dospělých pacientů s diabetem přesahovat 640 milionů (IDF). V roce 2015 zemřelo na diabetes a související komplikace asi 5 milionů jedinců (IDF). Situace v České republice není od celosvětových trendů odlišná. Ke konci roku 2013 bylo v ČR léčeno více než 862 tisíc pacientů s diabetes mellitus, z toho bylo 95% pacientů s diabetes mellitus 2. typu (Zvolský, 2015). Celkově došlo k nárůstu prevalence o 20 tisíc případů oproti roku 2012, prevalence onemocnění v roce 2013 tvořila 8.2%.

Obrázek 1 *Prevalence obezity celosvětově dle dat Světové zdravotnické organizace, upraveno dle [www. WHO.int](http://www.WHO.int)*



1.2 Etiopatogeneze diabetes mellitus 2. typu

Patogeneze diabetes mellitus 2. typu je složitá a stále ještě z větší části neobjasněná. Ústředním patofyziologickým činitelem je vznik inzulinové rezistence v metabolicky aktivních tkáních, zejména ve svalech, tukové tkáni a játrech. Zvýšené nároky na udržení normální hladiny glykémie vedou ke stále vyšší produkci inzulinu v pankreatických β -buňkách, dochází ke stavu chronické hyperinzulinémie. Ve chvíli, kdy již ani zvýšená produkce inzulinu nevede k udržení normoglykémie se manifestuje vlastní onemocnění, diabetes mellitus 2. typu. V posledních desetiletích bylo věnováno velké úsilí snaze o přesnější pochopení faktorů vedoucích ke vzniku IR a následně jejímu léčebnému ovlivnění. Mimo již zmíněné environmentální faktory hraje ve vzniku inzulinové rezistence důležitou roli porušená funkce tukové tkáně, nově je ve vztahu ke vzniku IR intenzivně studována i porušená funkce mitochondrií. Svou úlohu má i imunitní systém v souvislosti s rozvojem subklinického zánětu a také složení a vlastnosti střevní mikroflóry.

2 TUKOVÁ TKÁŇ

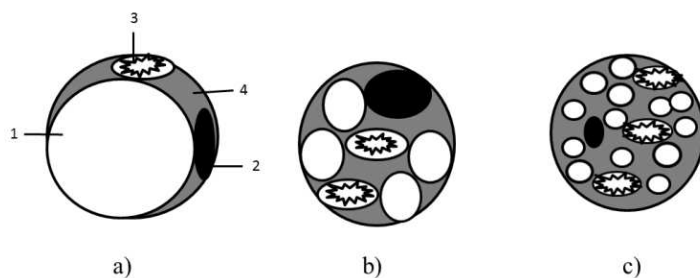
V lidském těle nacházíme dva typy tukové tkáně – hnědou (brown adipose tissue, BAT) a bílou tukovou tkáň (white adipose tissue, WAT), mající v organismu rozdílné úlohy.

2.1 Hnědá tuková tkáň

BAT je orgánem sloužícím zejména jako zdroj tepla v procesu netřesové termogeneze. U lidí je nejvyšší obsah hnědé tukové tkáně v novorozeneckém období, kdy tvoří až 5% z celkového objemu tukové tkáně. Je uložena v definovaných oblastech v podkoží interskapulárně, paraaortálně, perirenálně a mezi krčními svaly (Enerback, 2010). BAT je tvořena zralými hnědými adipocyty, preadipocyty, endoteliálními a intersticiálními buňkami (Cannon, Nedergaard, 2004). Adipocyt hnědé tukové tkáně má rozdílné uspořádání organel proti adipocytu bílé tukové tkáně. Jeho cytoplazma obsahuje několik drobných tukových kapének proti jedné rozsáhlé lipidové vakuole adipocytu WAT (Obrázek 2). Mitochondrie adipocytu BAT obsahují unikátní protein, tzv. odpráhující protein 1 (uncoupling protein 1, UCP 1), který umožňuje oddělit procesy respiračního řetězce. Výsledkem je tvorba energie ve formě tepla, místo formy makroergních vazeb adenosin-tri-fosfátu (ATP). Recentně je výzkumu hnědé tukové tkáně věnováno rozsáhlé výzkumné úsilí, neboť BAT bylo identifikováno i u dospělých jedinců. Studie využívající metody dynamické pozitronové emisní tomografie (PET/CT) k detekci metabolicky aktivní hnědé tukové tkáně prokázaly její přítomnost u

dospělých mužů v průměrném objemu 137cm^3 , což odpovídá asi 50g BAT (van Marken Lichtenbelt, Schrauwen, 2011). Rozložení BAT v dospělosti neodpovídá lokalitám popisovaným v novorozeneckém období, její rozložení je difuzní včetně přítomnosti okrsků hnědých adipocytů ve WAT. Adipocyty odpovídající více strukturou a funkcí hnědé tukové tkáni s přítomností ve WAT jsou označovány jako běžové adipocyty. Ve studii, která čítala více než 4000 jedinců, byla BAT detekována pomocí PET/CT u 5% žen a 1.3% mužů (Wang et al., 2015). BAT-pozitivní jedinci měli v této studii nižší index tělesné hmotnosti (BMI), menší akumulaci podkožního a viscerálního tuku, nižší hladinu glukózy nalačno a také příznivější parametry lipidového metabolismu (vyšší hladinu HDL-cholesterolu, nižší hladinu triacylglycerolů) než jedinci bez přítomné hnědé tukové tkáně. Výsledek další z recentních studií ukazuje, že BAT-pozitivní jedinci mají průměrně o 5kg nižší hmotnost než BAT-negativní subjekty (Persichetti et al., 2013). Zdá se tedy, že přítomnost hnědé tukové tkáně v dospělosti s sebou nese lepší metabolický profil a mohla by být i jakousi přirozenou ochranou před rozvojem obezity. Tato oblast se tak stává zajímavým cílem dalšího výzkumu, neboť schopnost diferenciacie adipocytu s hnědým/běžovým fenotypem by byla dalším z možných způsobů ovlivnění etiopatogeneze obezity a DM 2. typu. Výsledky dosavadních prací naznačují, že expozice chladu (Blondin et al., 2014; Lee et al., 2014), redukce hmotnosti (Vijgen et al., 2012) a také terapie některými farmaky (thiazolidindiony) vede k aktivaci hnědých adipocytů a také stimuluje tvorbu UCP 1 (Digby et al., 1998; Ohno et al., 2012). Praktické využití těchto poznatků však vyžaduje další výzkum.

Obrázek 2 Stavba adipocytů bílé, běžové a hnědé tukové tkáně. Adipocyt bílé tukové tkáně obsahuje méně mitochondrií a jednu nebo dvě tukové vakuoly; adipocyt běžové tukové tkáně má více mitochondrií, v cytoplazmě jsou četnější tukové vakuoly; adipocyt BAT obsahuje množství drobných tukových kapének a v souvislosti s vysokou metabolickou aktivitou i vysoké množství mitochondrií (upraveno dle Giralt, Villarroya, 2013).



a) adipocyt bílé tukové tkáně; b) běžový adipocyt; c) adipocyt hnědé tukové tkáně

1 – lipidová kapénka; 2 – buněčné jádro; 3 – mitochondrie; 4 – cytoplazma

2.2 Bílá tuková tkáň

Bílá tuková tkáň byla po dlouhá desetiletí vnímána pouze jako zásobárna energie, tepelná a mechanická izolace organismu. Je tvořena řadou buněk, nejvíce zastoupené jsou adipocyty, dále jsou přítomny preadipocyty, endoteliální buňky, fibroblasty, leukocyty, makrofágy a řada dalších. V roce 1994 byl identifikován leptin, první hormon tvořený primárně v tukové tkáni (Zhang *et al.*, 1994). Poté následovaly objevy dalších hormonů, které jsou souhrnně nazývány adipokiny. Vznikl tak zcela nový koncept, kdy je tuková tkáň chápána jako endokrinně aktivní orgán produkující celou řadu působků a biologicky aktivních látek (Kernshaw, Flier, 2004). Normální procentuální zastoupení tukové tkáně v organismu činí asi 10-25% u mužů a 15-30% u žen (Rokyta *et al.*, 2015). Množství tukové tkáně se také mění v závislosti na věku. S přibývajícím věkem klesá podíl svalové hmoty a narůstá množství tukové tkáně. Je prokázáno, že excesivní akumulace tukových zásob vedoucí k obezitě je zároveň podkladem pro změnu endokrinní produkce tukové tkáně (Blüher, 2009; Batra, Siegmund, 2012; Blüher, 2012).

2.3 Funkce a morfologie tukové tkáně dle lokalizace

Bylo prokázáno, že funkce tukové tkáně se liší podle anatomického rozmístění tukových depozit, přičemž viscerální (tedy intraperitoneální, omentální a mezenterální) tuk (VAT, visceral adipose tissue) je proti podkožní tukové tkáni (SCAT, subcutaneous adipose tissue) považován za celkově více metabolicky a endokrinně aktivní. U mužů tvoří VAT až 20% z celkového množství tuku, u žen v premenopauzálním období je to asi jen 6%. Predilekční rozložení excesivní tukové tkáně v oblasti viscerální je označováno za tzv. obezitu androidní, častěji nacházenou u mužů. Rozložení tukových depozit v podkoží v oblasti hýždí a stehů je pak forma obezity gynoidní, která nevykazuje tak silnou asociaci s metabolickými a kardiovaskulárními komplikacemi obezity jako forma androidní (Ducimetiere *et al.*, 1986). Excesivní akumulace VAT je spojována s rozvojem komplikací obezity (Wajchenberg 2000, Després *et al.* 2008, Indulekha *et al.* 2011, Baglioni *et al.* 2012). Adipocyty ve viscerální tukové tkáni jsou celkově větší, produkují velké množství prozánětlivých cytokinů, adipokinů a také volných mastných kyselin (free fatty acids, FFA). Tato nadprodukce biologicky aktivních substancí je základem pro rozvoj subklinického zánětu a přímého ovlivnění citlivosti tkání k inzulinu (Fernandez-Real, Ricart, 2003). Adipocyty ve VAT mají také bohaté cévní zásobenění a inervaci, jsou citlivější k lipolýze. Metabolity adipokinů a prozánětlivé cytokiny produkované imunokompetentními buňkami VAT jsou z viscerální tukové tkáně

odváděny přímou cestou do portálního řečiště a bezprostředně ovlivňují metabolické pochody v játrech. Adipocyty podkožní tukové tkáně jsou co do velikosti menší, nemají tak výrazné cévní a nervové zásobení a také je zde menší zastoupení imunokompetentních buněk (Smitka, Marešová, 2015).

2.4 Adipokiny

Adipocyty a rezidentní makrofágy přítomné v tukové tkáni jsou zdrojem celé řady biologicky aktivních látek (Rasouli, Kern, 2008). Adipokiny, také souhrně označované jako adipocytokiny, jsou peptidy tvořené zejména adipocyty. Prozánětlivé cytokiny jsou v tukové tkáni tvořeny v největší míře makrofágy, ačkoliv adipocyty také přispívají k jejich produkci. Adipocyty produkované cytokiny tvoří až jednu třetinu celkové produkce TNF- α (tumor necrosis factor α , tumor nekrotizující faktor α) a interleukinu 6 (IL6) pocházejícího z tukové tkáně (Fantuzzi, 2005). Jako první z řady adipokinů byl popsán leptin.

2.4.1 Leptin

Leptin (z řeckého *leptos*, štíhlý nebo tenký) je hormon tvořený 167 aminokyselinami, který řídí příjem potravy a výdej energie (Zhang et al., 1994). Leptin reguluje tělesnou hmotnost cestou signalizace nutričního stavu organismu centrálnímu nervovému systému po vazbě na leptinový receptor (LepR). Vysoká exprese LepR je nacházena zejména v nukleus arcuatus hypotalamu. Po aktivaci LepR jsou spouštěny mnohočetné signalizační cesty, z nichž každá zprostředkuje rozdílné aspekty působení leptinu (St-Pierre, Tremblay, 2012). Hlavní signalizační cestou leptinu je cesta aktivace JAK-STAT, která reguluje expresi anorekticky působících neuropeptidů. Antidiabetické účinky leptinu jsou zprostředkovány centrálně aktivací cesty fosfatidylinozitol-3-kinázy (PI3K)/AKT, která stimuluje inzulinovou citlivost v periferních tkáních (Morton et al., 2008). Cirkulující hladiny leptinu korelují s tukovými zásobami v buňkách, jeho hladiny se zvyšují při nadměrném příjmu potravy, snížené hladiny jsou nacházeny při hladovění (Considine et al., 1996; Chan et al., 2003). Chybění leptinu nebo mutace v genech kódující leptinový receptor vedou k výrazné hyperfagii a obezitě, jak u hlodavců (Friedman, Halaas, 1998), tak u lidí (Montague et al., 1997; Farooqi et al., 2007). Prevalence této mutace u obézních jedinců je však velice nízká. U pacientů s obezitou a DM 2. typu jsou hladiny leptinu zvýšeny, avšak leptin se v těchto případech neuplatňuje jako regulátor metabolických pochodů a inzulinové senzitivity. Je to způsobeno stavem popisovaným jako leptinová rezistence, který vzniká v případech zvýšeného energetického příjmu a sníženého energetického výdeje, tj. stavu obdobnému inzulinové rezistenci, kdy vede

nedostatečná citlivost cílových orgánů k inzulínu k nadprodukci inzulínu. Účinky leptinu jsou úzce spjaty i s imunitním systémem. Leptin zvyšuje sekreci reaktantů akutní fáze a TNF- α z thymu, dále také podporuje diferenciaci lymfocytů z řady T1-helperů. Stimuluje makrofágy a ostatní imunokompetentní buňky k produkci širokého spektra prozánětlivých cytokinů (La Cava, Matarese, 2004). Leptin u pacientů s obezitou a DM 2. typu potencuje rozvoj subklinického zánětu.

2.4.2 Adiponektin

Dalším z významných adipokinů je adiponektin. Adiponektin je produkován zejména adipocyty, je však také exprimován buňkami kosterního svalu, srdečního svalu a endoteliálními buňkami (Pinerio et al., 2005; Delaigle et al., 2004). Sérové koncentrace adiponektinu u zdravých jedinců jsou v porovnání např. s leptinem vysoké (až 5-10 $\mu\text{g/ml}$) a mají celou řadu biologických účinků (Fantuzzi, 2005). Adiponektin má inzulín-senzitizující účinky (Knights et al., 2014; Yamauchi et al., 2002), má také antiaterogenní (Funahashi et al., 1999; Ouchi et al., 1999) a vaskuloprotektivní účinky (Kadowaki, Yamauchi, 2005; Zhu et al., 2008). Adiponektin působí i na centrální úrovni, kde má úlohu v regulaci energetické homeostázy organismu (Kadowaki et al., 2008). Pacienti s obezitou, inzulínovou rezistencí a DM 2. typu mají sérové hladiny adiponektinu významně snižené, jeho hladiny negativně korelují s parametry IR (Arita et al., 1999; Li et al., 2009). Adiponektin existuje v lidském organismu v několika izoformách – jako trimer, nízkomolekulární hexamer a vysokomolekulární polymer (HMW adiponektin) (Banga et al., 2008; Pajvani et al., 2003). Inzulín-senzitizující účinky jsou spojovány s vysokomolekulární formou adiponektinu, formě trimerické a hexamerické jsou připisovány účinky centrální (Kusminski et al., 2007). Účinky adiponektinu jsou zprostředkovány působením přes 2 druhy trans-membránových receptorů, AdipoR1 a AdipoR2. AdipoR1 je exprimován v kosterním svaly a v játrech, AdipoR2 je nacházen zejména v játrech (Kadowaki et al., 2006). Aktivací AdipoR1 dochází ve svalech a játrech ke zvýšení aktivity AMP-aktivované proteinkinázy, která zprostředkuje inzulín-senzitizující účinky adiponektinu a také zvyšuje oxidaci mastných kyselin (Yamauchi et al., 2002). Aktivace AdipoR2 v játrech vede k zvýšené expresi PPAR α (peroxizom proliferátor aktivovanými receptory- α) a jeho cílových genů, což vede také ke zvýšení oxidace mastných kyselin (Yamauchi et al., 2007). V kontextu subklinického zánětu má adiponektin účinky protizánětlivé. Adiponektin potlačuje tvorbu TNF- α (Xu et al., 2003), myši s vyřazeným genem pro adiponektin mají vysoké cirkulující hladiny TNF- α (Maeda et al., 2002). Naopak zvýšená produkce TNF- α snižuje transkripci adiponektinu v adipocytech (Maeda et al., 2002).

Exprese adiponektinu je potlačována také zvýšenou produkcí dalších prozánětlivých cytokinů, jako je interleukin 6 (IL-6) (Fasshauer et al., 2003). Zvýšení hladin adiponektinu je spojeno s hmotnostním úbytkem. Bylo také pozorováno zvýšení hladin adiponektinu při aktivaci jaderných receptorů PPAR γ (peroxizom proliferátor aktivovanými receptory- γ) jejich ligandy thiazolidindiony (glitazony), které jsou užívány k léčbě DM 2. typu (Iwaki et al., 2003).

2.4.3 Resistin

Resistin patří do skupiny proteinů bohatých na cystein, které jsou nazývány RELMs (resistin-like molecules). Přesné účinky resistinu a jeho úloha při rozvoji inzulinové rezistence u lidí není stále zcela objasněna. Bylo však prokázáno, že resistin má prozánětlivé účinky, jeho genová exprese je zvýšena řadou prozánětlivých cytokinů, jako je IL-1, IL-6 a TNF- α (Kaser et al, 2003). Resistin byl objeven při výzkumu adipocytárních genů, jejichž exprese byla potlačena podáváním inzulin-senzitizující léků hlodavcům (Steppan et al., 2001). V této studii vedlo u obézních myší snížení hladin cirkulujícího resistinu k zlepšení citlivosti tkání k inzulinu. U myší je resistin produkován tukovými buňkami, u lidí je resistin produkován zejména makrofágy, ačkoliv exprese resistinu byla prokázána také v adipocytech, pankreatických a svalových buňkách (Kusminski et al., 2005). Složení lidského a hlodavčího resistinu je shodné jen z 59%, což je nižší než u jiných adipokinů (Ghosh et al., 2003). V pokusu vedla exprese lidského resistinu na myších makrofázích k navození inzulinové rezistence, což naznačuje, že přes neidentické složení a rozdílný původ, by mohl mít hlodavčí a lidský resistin obdobné funkce (Qatanani et al, 2009). V epidemiologických studiích bylo zvýšení hladiny resistinu spojeno s rizikem rozvoje DM 2. typu, aterosklerózy a infarktu myokardu. Také byla prokázána souvislost resistinu se zvýšenými parametry zánětu (Burnett et al., 2005; Heidemann et al., 2008; Chen et al., 2009).

2.4.4 Visfatin

Visfatin je adipokinem, který byl popsán již v 90. letech jako PBEF (pre-B-cell colony-enhancing factor) v souvislosti s akutními zánětlivými onemocněními plic (Samal et al, 1994; Ye et al., 2005). Současný název adipokinů je odvozen od faktu, že visfatin je v nejvyšší míře exprimován a tvořen ve viscerální tukové tkáni (Fukuhara et al., 2005). Není tvořen v adipocytech samotných, ale v non-makrofágové frakci stromální vaskulární tkáně (Varma et al., 2007). Visfatin působí ve tkáních jako inzulinové mimetikum, čímž vede ke zvýšenému vychytávání glukózy (Revollo et al., 2007). Podporuje také diferenciaci adipocytů a snižuje uvolňování glukózy z hepatocytů. Visfatin působí cestou inzulinového receptoru (iR). Bylo

zjištěno, že má stejnou afinitu k iR jako vlastní inzulin, ale váže se na jiném místě. V pokusu na hlodavčím modelu vedlo podání visfatinu ke snížení hladiny glukózy, myši s knock-out genem pro visfatin měly vyšší glykémii (Fukuhara et al., 2005). U pacientů s DM 2. typu byly sérové koncentrace visfatinu zvýšené, byla také prokázána souvislost s nárůstem hladin visfatinu při zhoršující se funkci pankreatických β -buněk (Lopéz-Bermejo et al., 2006). Naopak hladiny visfatinu u jedinců s DM 1. typu jsou sniženy. Byla zjištěna i pozitivní korelace mezi genovou expresí visfatinu ve VAT a indexem tělesné hmotnosti, korelace mezi expresí visfatinu v podkožní tukové tkáni a BMI byla negativní (Berndt et al., 2005, Varma et al., 2007). Nověji bylo prokázáno, že visfatin má klíčovou úlohu v biosyntéze nikotinamid adenin dinukleotidu (NAD). Visfatin má totiž identickou strukturu s intracelulární formou nikotinamid fosforibozyl-transferázy (NAMPT), která reguluje nitrobuněčnou aktivitu NAD/NADH dependentních enzymů, které jsou nezbytné pro sekreci inzulínu závislou na glukóze v pankreatických β -buněkách (Revollo et al., 2007).

2.4.5 Omentin

Omentin je adipokin, složený z 313 aminokyselin o molekulové hmotnosti 38-40kDa, který obsahuje sekreční signální sekvenci i fibrinogenovou doménu. Protein odpovídající strukturou omentinu byl poprvé popsán v r. 2001 v souvislosti se schopností rozpoznávat galaktofuranózu bakteriální stěny. Tento protein byl pojmenován lidský intelektin (Tsuji et al., 2001). Intelektiny celkově hrají roli v imunitním systému organismu. Jedná se o lektiny (proteiny schopné vazby sacharidů), které se navazují na glykany stěny mikrobů a uplatňují se tak v procesech vrozené imunity (Wesner et al., 2015). Současně byly popsány proteiny s identickými genovými sekvencemi jako intelektin, které byly exprimovány v cévní stěně (endoteliální lektin HL-I) a v intestinálních buňkách (intestinální laktoferrinový receptor) (Lee et al., 2001; Suzuki et al., 2001). V roce 2005 byl v omentálním tuku identifikován týž protein a bylo prokázáno, že jeho exprese je nevyšší právě ve viscerální tukové tkáni (Schäffler et al., 2005; Yang et al., 2006). Proto je nejužívanější pojmenování pro tento adipokin právě omentin. Omentin je produkovaný zejména stromálními vaskulárními buňkami VAT, ne adipocyty samotnými. V lidském organismu existuje ve dvou izoformách, jako omentin-1 a omentin-2. Omentin-1 je detekovatelný v systémové cirkulaci a je také vysoce exprimován ve VAT. Omentin-2 není zjištěný v séru, je uvolňován především do intestinálního lumen (de Souza Batista et al., 2007).

2.4.5.1 Omentin a metabolismus

Omentin v lidském organismu vykazuje inzulín-senzitizující účinky. V pokusu *in vitro* nevedlo přidání rekombinantního omentinu ke zvýšenému vychytávání glukózy buňkami (Yang et al., 2006), omentin však až o 50% zvyšoval vychytávání glukózy adipocyty za přítomnosti inzulínu. Efekt omentinu byl v pokusu významnější u adipocytů podkožní tukové tkáně než u adipocytů VAT. Předpokládá se, že omentin zvyšuje přenos signálu z inzulínového receptoru pomocí aktivace Akt/proteinkinázy B (Akt/PKB). Recentně byly publikovány výsledky, které naznačují, že omentin může působit i cestou up-regulace adiponektinu, ovlivňuje tak lipidový metabolismus a nepřímo i zvyšuje citlivost tkání k inzulínu (Herder et al., 2015). Hladiny sérového omentinu a jeho genová exprese ve VAT jsou u pacientů s obezitou a DM 2. typu snižené (Auget et al., 2011; Jialal et al., 2013). U pacientek s restriktivní formou mentální anorexie byly naopak sérové koncentrace omentinu zvýšené (Oświecimska et al., 2015). Snižování hladin omentinu v séru je asociováno se snížením koncentrace sérového adiponektinu a HDL-cholesterolu. Sérové koncentrace omentinu také negativně korelují se sérovými hladinami leptinu, resistinu a inzulínu, indexem tělesné hmotnosti a HOMA indexem (de Souza Batista *et al.* 2007). Výsledky studií naznačují, že omentin by mohl být slibným potenciálním cílem pro léčbu inzulínové rezistence a diabetes mellitus 2. typu. Mohl by se také stát určitým nutričním ukazatelem, který odráží míru inzulínové rezistence a reflektuje i tělesnou hmotnost (Oświecimska et al., 2015). Je také diskutováno možné působení omentinu jako regulátoru chuti k jídlu. V pokusech na hlodavčím modelu mělo podávání omentinu orexigenní účinky, došlo ke zvýšenému uvolňování noradrenalinu v hypothalamu a také ke snížení exprese CART (cocaine-amphetamine-regulated transcript) (Brunetti et al., 2013).

2.4.5.2 Omentin a kardiovaskulární systém

Omentin ovlivňuje také kardiovaskulární systém a je jedním z regulačních faktorů vaskulárního tonu. Omentin, podobně jako adiponektin, visfatin a ADRF (adipocyte-derived relaxing factor), je řazen mezi adipokiny s vazorelaxačními účinky. Omentin v cévní stěně přímo indukuje relaxaci závislou na endotelinu, která je zprostředkována oxidem dusnatým (NO). Podobně jako adiponektin aktivuje 5'-AMP-aktivované proteinkinázy a endoteliální NO – syntázu. Omentin navozuje vazodilataci pravděpodobně také cestou nezávislou na endotelinu. Vazodilatace byla pozorována v pokusech *in vitro* i na rezistenčních cévách, na potkaním modelu navozoval vazodilataci mezenterálních cév (Yamawaki et al., 2010).

Omentin ovlivňuje i zánětlivé procesy v cévní stěně, které výsledně vedou k rozvoji řady kardiovaskulárních onemocnění (Yamawaki et al., 2011). Bylo prokázáno, že omentin snižuje cévní zánět zprostředkovaný TNF- α . Omentin je také významně exprimován v perivaskulárním a epikardiálním tuku, díky svým vazodilatačním účinkům by tedy mohl hrát protektivní roli v rozvoji vaskulární aterosklerózy, arteriální hypertenze a ischemické choroby srdeční (ICHS) (Fain et al., 2008; Yamawaki et al., 2010). U pacientů s ICHS byly hladiny omentinu sniženy (Shang et al., 2011), jeho snížené sérové koncentrace také korelují s tíží a progresí kardiovaskulárního onemocnění (Dilip et al., 2015). Celkově je omentin považován za protektivní faktor v rozvoji kardiovaskulárních onemocnění a to i pro své protizánětlivé působení. Omentin inhibuje tvorbu TNF- α , volných radikálů a superoxidů v cévní stěně (Kazama et al., 2012; Cherian et al., 2009).

2.4.6 Další adipokiny

V důsledku snahy o hlubší porozumění patofyziologie obezity, souvisejících komorbidit a také snahy najít nové možnosti farmakologického ovlivnění funkce tukové tkáně jsou stále popisovány nové faktory, které mají funkci adipokinů. Celkem je známo až 600 biologicky aktivních látek pocházejících primárně z tukové tkáně (Lehr et al., 2012). Z toho bylo recentně popsáno 44 nových adipokinů, jejichž funkce není zatím zcela jasná (Blüher, 2014). Adipokinem s obdobnými inzulin-senzitizujícími účinky jako adiponektin je **vaspin** (visceral adipose-tissue derived serine protease inhibitor). Dle výsledků studií vykazuje vaspin také účinky protizánětlivé, potlačuje produkci TNF- α , leptinu a resistinu (Hida et al., 2005). **Retinol-binding protein 4 (RBP4)** je dalším z nově identifikovaných adipokinů. Kromě své funkce vazebného proteinu pro retinol hraje nejspíše i úlohu v rozvoji inzulinové rezistence a DM 2. typu (Yang et al., 2005). Vyšší hladiny sérového RBP4 jsou spojeny s obezitou a DM 2. typu (Graham et al., 2006). Novější studie u dětí a adolescentů poukazují na významnou roli RBP4 v časných stádiích rozvoje obezity a jejích metabolických komplikací (Kotnik et al., 2011). **LCN2** (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) je adipokinem, který náleží podobně jako RBP4 do rodiny lipokalinů. Zdá se, že LCN2 také zasahuje do metabolismu glukózy (Kjeldsen et al., 1994). Mimo to má uplatnění také v apoptóze a vrozené imunitě. Je exprimován adipocyty, neutrofily a makrofágy, a dále také v játrech a ledvinách (Wang et al., 2007). LCN2 nejspíše v organizmu působí protizánětlivě, jeho sekrece je regulována zánětlivými působky a infekcí (Kjeldsen et al., 1994). Exprese LCN2 je zvýšená působky, které podporují rozvoj inzulinové rezistence, k jejímu snížení naopak vede podávání antidiabetik thiazolidindionů (Yan et al., 2007). Cirkulující hladiny LCN2 jsou zvýšené u

obézních zvířecích modelů a u pacientů s DM 2. typu. Je zvažováno, že zvýšení hladin LCN2 v případě obezity a IR může být určitý protektivní mechanismus před subklinickým zánětem (Zhang et al., 2008). LCN2 antagonizuje účinky TNF- α na adipocyty a makrofágy, brání zvýšené tvorbě IL-6 a MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1). **Adipolin** (CTRP12) je recentně popsaným adipokinem, který vykazuje protizánětlivé a inzulín-senzitizující účinky. Adipolin (adipose-derived insulin-sensitizing factor) se řadí do CTRP (C1q/TNF-related protein) proteinové rodiny, je exprimován převážně adipocyty (Enomoto et al., 2011). Jeho exprese je snížena u modelů myši obezity, podávání adipolinu těmto myším vedlo ke zlepšení parametrů glukózového metabolismu a inzulínové rezistence. Došlo také ke snížení infiltrace tukové tkáně makrofágy a byla zaznamenána nižší exprese prozánětlivých cytokinů. Sérové koncentrace adipolinu negativně korelovaly s hladinami prozánětlivě působícího adipokinu resistinu (Wei et al., 2012). Zatím je jen málo informací, jak působí adipolin u lidí. Tan a kol. prezentovali výsledky studie které naznačují, že léčba metforminem u pacientů s inzulínovou rezistencí vede ke zvýšení sérových koncentrací adipolinu (Tan et al., 2014). Tím se adipolin stává dalším zajímavým cílem v léčbě IR a DM 2. typu. **SFRP5** (secreted frizzled-related protein 5) působí jako cirkulující modulátor, který sekvstruje Wnt proteiny v extracelulární matrix a zabraňuje tak jejich vazbě na receptory (Bovolenta et al., 2008). Wnt5 je látka bílkovinné povahy, která je nacházena ve zvýšeném množství v tukové tkáni obézních hlodavců, Wnt5 je antagonizován SFRP5. SFRP5 knock-out myši mají normální parametry glukózového metabolismu při vyvážené stravě, ale při vysoko-kalorické dietě rozvíjejí inzulínovou rezistenci, těžkou glukózovou intoleranci a také těžkou jaterní steatózu (Ouchi et al., 2010). Deficience SFRP5 také vede ke zvýšené akumulaci makrofágů v tukové tkáni se související zvýšenou produkcí prozánětlivých cytokinů. Deficit SFRP5 podporuje rozvoj subklinického zánětu tukové tkáně a inzulínové rezistence u obézních.

2.5 Prozánětlivé cytokiny

Obezita a DM 2. typu jsou považovány za stavy spojené s chronickým subklinickým zánětem. Souvislost obezity s vyššími hodnotami zánětlivých parametrů a aktivovaného komplementu je známá od 60. let 20. století (Ganrot et al., 1967; Powell, Field, 1966). Hotamisligil a kol. prokázali v 90. letech, že obezita je spojena se zvýšenou expresí TNF- α v tukové tkáni jak hlodavců, tak lidí (Hotamisligil et al., 1993). Dále také poukázali na prokazatelný vzestup hladin TNF- α u pacientů s obezitou a formulovali teorii, že tento protein je spojen s rozvojem inzulínové rezistence u obézních pacientů. Nyní je známo více než 50 zánětlivých proteinů, jejichž exprese je u obézních v tukové tkáni zvýšena (Gregor, Hotamisligil, 2011).

2.5.1 Původ prozánětlivých cytokinů v tukové tkáni

Celkově jsou v lidském organismu hlavními producenty prozánětlivých cytokinů játra a orgány lymfopoetického systému. Jinak je tomu například u hmyzu, kde je tzv. tukové tělísko důležitým orgánem pro zánětlivou odpověď, zejména pak reakce vrozené imunity. Tuková tkáň je zde vybavena receptory pro proteiny buněčné stěny bakterií a plísní, tzv. Toll receptory. Po jejich stimulaci je aktivována nitrobuněčná signální kaskáda nukleárního faktoru kappa B (NFκB), která vede k sekreci antibakteriálních proteinů a jsou aktivovány další obranné mechanismy (Rolff, Siva-Jothy, 2003). Tukové tělísko u těchto bezobratlých zastává i metabolické funkce odpovídající funkci jater u vyšších živočichů, slouží také jako zásobárna lipidů. V průběhu evoluce došlo u obratlovců k přerozdělení metabolických funkcí mezi játra a tukovou tkáň, imunitní systém se vyvinul v podstatě jako samostatná orgánová soustava. Nicméně i tuková tkáň si zachovala některé atributy odpovídající imunitnímu systému, zejména schopnost zánětlivé odpovědi na specifické stimuly. Adipocyty jsou vysoce citlivé k partikulím infekčních vektorů a k signálům přinášených zánětlivými cytokiny. Adipocyty jsou vybaveny celou řadou receptorů, které po aktivaci spouští signální kaskády vedoucí k tvorbě a uvolnění zánětlivých cytokinů a reaktantů akutní fáze. Jsou citlivé ke stimulaci cytokiny jako je TNF-α, IL-1β, IL-4, IL-6, IL-11, interferon-γ (INFγ) a také například ke komponentám buněčné stěny plísní (Rajala, Sherer, 2003). Zároveň adipocyty po stimulaci zánětlivými faktory produkují samy řadu působků. Jsou zdrojem menší frakce TNF-α, PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1, inhibitor aktivátoru plasminogenu-1), IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-15, růstového faktoru hepatocytů, sérového amyloidu A3 (SAA3), haptoglobinu, inhibičního faktoru migrace makrofágů, komponenty komplementu C3, B, D, prostaglandinu E2 a také adipokinů, které fungují jako imunomodulátory – leptin, adiponektin, resistin (Fain et al., 2004). Adipokiny pak fungují opět jako faktory ovlivňující produkci zánětlivých cytokinů ostatními buňkami a přispívají k dalšímu rozvoji zánětu.

2.5.1.1 Makrofágy v subklinickém zánětu

Zdrojem zánětlivých cytokinů v tukové tkáni nejsou z převážné části samotné adipocyty, ale rezidentní makrofágy – tzv. ATM (adipose tissue macrophages, makrofágy tukové tkáně), které do tukové tkáně vstupují z cirkulace (Weisberg et al., 2003; Xu et al., 2003). Makrofágy jsou považovány za buňky přispívající největší mírou k rozvoji zánětu, avšak i adipocyty nezávisle přispívají k rozvoji zánětu. Adipocyty a makrofágy spolu také interagují a synergicky stimulují vzájemnou zánětlivou odpověď. Tato autokrinní a parakrinní signalizace

je obzvláště významná v případě obezity. Tuková tkáň je běžně osídlena makrofágy jen z 5-10%, přičemž hmotnostní přírůstek vede k významnému vzestupu počtu makrofágů v tukové tkáni. Vzestup počtu makrofágů je v korelaci s nárůstem BMI a hypertrofií adipocytů. Makrofágy v tukové tkáni obézních tvoří až 60% všech buněk (Weisberg et al., 2003; Curat et al., 2004). Infiltrace tukové tkáně makrofágy je přítomna u obézních, přičemž nezáleží na primární příčině obezity – nebyly zjištěny rozdíly mezi počtem makrofágů u monogenně podmíněné obezity a dietou navozené obezity (Xu et al., 2003). Zvýšená akumulace makrofágů v případě obezity nebyla zjištěna v jiných orgánech, jako jsou játra, kosterní sval, slezina nebo plíce (Xu et al., 2003). Zvýšení počtu makrofágů v tukové tkáni je také spojováno s rozvojem komplikací obezity, u myši na vysokotukové dietě korelovala infiltrace tukové tkáně makrofágy s rozvojem IR (Xu et al., 2003). Naopak redukce hmotnosti vede k významné regresi hypertrofie adipocytů a snižuje se počet makrofágů v tukové tkáni (Charriere et al., 2003).

2.5.1.1.1 Původ makrofágů tukové tkáně

Po průkazu přítomnosti vyššího množství makrofágů v tukové tkáni obézních vznikla otázka původu ATM. Weisberg a kol. provedli transplantaci kostní dřeně značené antigenem CD45.1 myším s nově navozenou obezitou s rozdílným makrofágovým antigenem. Bylo zjištěno, že velká většina poté detekovaných makrofágů v tukové tkáni má původ v transplantované kostní dřeni a jen minimum je původem z organismu podstupujícího transplantaci (Weisberg et al., 2003). Makrofágy jsou do tukové tkáně určitým způsobem přitahovány. Existují ale i studie naznačující, že jistá malá část makrofágů vzniká přímo v tukové tkáni konverzí preadipocytů (Charriere et al., 2003). Plasticita mesenchymálních buněk je, jak se ukazuje, mnohem větší, než se doposud zvažovalo. Předpokládá se, že zralý adipocyt nepodstupuje mitotické dělení, proto je vzestup počtu adipocytů v tukové tkáni spojen s diferenciací prekurzorových buněk – preadipocytů, respektive kmenové mesenchymální buňky. Některé práce však poukazují i na možnost dediferenciace zralého adipocytu v preadipocyt (Yagi et al., 2004) nebo i v multipotentní buněčné linii (Jumabay et al., 2009; Jumabay et al., 2010). Charrier a kol. prokázali v roce 2003, že preadipocyty jsou v prostředí makrofágů schopny konverze v buňky s fagocytickou aktivitou typickou pro makrofágy. V pokusu *in vivo* vedlo podání značené stromální vaskulární frakce tukové tkáně a 3T3-L1 preadipocytů intraperitoneální injekcí myším k změně fenotypu preadipocytů. Preadipocyty v prostředí peritoneálních makrofágů začaly vykazovat silnou fagocytickou aktivitu, více než 60% preadipocytů také exprimovalo antigeny specifické pro makrofágy

(F4/80, Mac-1, CD80, CD86, CD45). *In vitro* pokus poté ukázal, že blízký mezibuněčný kontakt mezi preadipocyty a peritoneálními makrofágy částečně indukoval tuto fenotypovou preadipocytární konverzi (Charrier et al., 2003). Preadipocyty dle některých prací vykazují fenotypickou podobnost větší s makrofágy, než se zralými adipocyty (Cousin et al., 1999). Většina makrofágů však do tukové tkáně přichází ze systémové cirkulace, jejich nábor probíhá nejspíše více mechanizmy, které však nejsou ještě zcela prozkoumané.

2.5.1.1.2 Fenotypizace makrofágů tukové tkáně

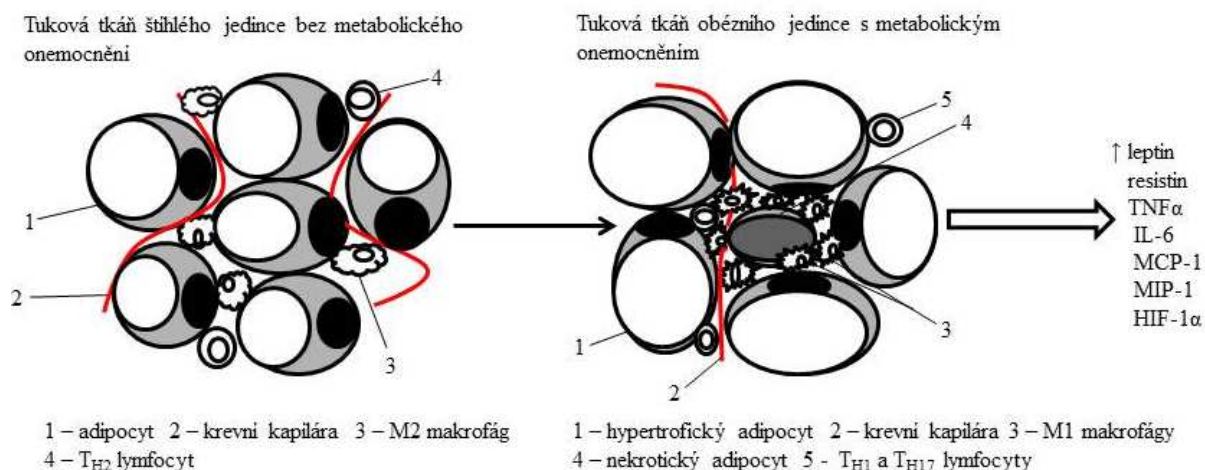
Monocyto-makrofágový systém, dříve nazývaný systémem retikuloendotelovým, je součástí nespecifické imunity. Monocyty (stejně jako neutrofilní a eosinofilní granulocyty) jsou formou vyskytující se v systémové cirkulaci, tkáňová forma monocytů se nazývá makrofágy. Ty mohou být dle svého původu rezidentní (fixní, přítomné trvale v tkáních) nebo volné (do tkání rekrutované z cirkulace). Buňky se vyznačují schopností fagocytózy, patří mezi antigen-prezentující buňky pro T-lymfocyty (součást specifické imunity) a mají nezastupitelnou úlohu v nespecifické imunitě a zánětlivých procesech, jsou zdrojem mnoha cytokinů a imunomodulátorů (Hořejší, Bartůňková, 2002). Makrofágy jsou zastoupeny v mnoha tkáních jako tzv. fixní makrofágy, jejich řada je velmi různorodá. Mezi makrofágy jsou řazeny histiocyty, Kupferovy buňky jater, alveolární makrofágy plic, část makrofágů se dále přeměňuje v dendritické buňky nebo například v osteoklasty. Monocyty po aktivaci specifickými stimuly migrují do tkání a stávají se makrofágy s významnou fagocytickou schopností. Rozeznáváme dva typy makrofágů tukové tkáně, M1 (klasicky aktivované makrofágy) a M2 (nebo také alternativně aktivované) makrofágy. Jedná se o určitou paralelu s dělením T_H -lymfocytů (T helpery, T pomocné lymfocyty), kde jsou popisovány T_{H1} - a T_{H2} -lymfocyty. T_{H1} -lymfocyty podporují po stimulaci cytotoxickou a buněčnou odpověď, T_{H2} -lymfocyty podporují protilátkovou odpověď zprostředkovanou B-lymfocyty. Zánětlivý stimul aktivující T_{H1} -lymfocyty, například cytokiny jako je interferon γ (INF- γ) nebo partikule bakteriální stěny (LPS, lipopolysacharidy buněčné stěny) způsobí preferenční diferenciaci monocytů v M1 makrofágy s velkým prozánětlivým potenciálem. Naopak cytokiny produkované T_{H2} -lymfocyty jsou stimulem k alternativní aktivaci monocytů v M2 makrofágy, které mají schopnosti reparační, antiparazitární a účastní se také remodelace tkání (Broulier et al., 2009). M2 makrofágy se dále dělí na 3 subtypy dle stimulu k diferenciaci: M2a, M2b a M2c makrofágy. M1 makrofágy jsou zdrojem prozánětlivých cytokinů, jakými jsou TNF- α , IL-6, dále produkují volné kyslíkové radikály (reactive oxygene species, ROS) a indukovatelnou NO syntázu (iNOS, inducible nitric oxide synthase), které jsou spojovány

s rozvojem inzulínové rezistence. M2 makrofágy tvoří antagonisty receptorů pro IL-1, IL-10 a enzym arginázu, které jsou spojeny s remodelací tkání (Gordon, 2003). Obezita vede k posunu zastoupení subpopulace makrofágů v preferenční typ M1, je zvýšená produkce prozánětlivých cytokinů a ROS, což přispívá k rozvoji IR a DM 2. typu (Lumeng et al., 2007).

2.5.1.1.3 Rozmístění M1 a M2 makrofágů v tukové tkáni

Rozmístění makrofágů je odlišné v tukové tkáni obézních a štíhlých jedinců. Rezidentní makrofágy tukové tkáně u štíhlých jsou lokalizovány zejména intersticiálně, kdežto u obézních jsou makrofágy shromažďovány do clusterů, které jsou nazývány "crown-like structures" (CLS, koruně-podobné struktury) (Cinti et al., 2005). Toto uspořádání makrofágů je typické pro lokální zánětlivé stavy (Obr 3). Studie s využitím značení PKH26 prokázaly, že makrofágy nově rekrutované do tukové tkáně jsou primárně rozmístěny jako CLS (Lumeng et al., 2008). Obezita vede k dramatickému nárůstu M1 makrofágů v tukové tkáni, počet M2 makrofágů také relativně narůstá, ale jejich proporční zastoupení proti M1 subtypu je výrazně nižší. M2 makrofágy jsou umístěny intersticiálně a v menší míře jsou součástí shluků CLS (Shaul et al., 2010). Předpokládá se, že M2 makrofágy jsou nezbytné pro odklizení odumřelých adipocytů, remodelaci proteinů buněčné matrix a k promoci angiogeneze (Cinti et al., 2005). Nevyvážený M1/M2 fenotyp je přítomen i v cirkulaci pacientů s obezitou (cirkulující monocyty pacientů s obezitou vykazují více znaků charakteristických pro M1 než M2 makrofágy) a je spojen s dalšími metabolickými komplikacemi obezity a také koreluje s tíží tuhosti arteriální stěny (Sato et al., 2010).

Obrázek 3 Uspořádání rezidentních makrofágů u štíhlých jedinců a pacientů s obezitou. U zdravých, štíhlých jedinců jsou v tukové tkáni přítomny zj. M2 makrofágy, které slouží k remodelaci tkáně, usnadnění angiogeneze a k odklizení odumřelých adipocytů. Z dalších imunokompetentních buněk v tukové tkáni se u zdravých vyskytují T_H2 a T_{reg} lymfocyty. Naproti tomu v tukové tkáni obézních s metabolickým onemocněním je převaha M1 makrofágů, které jsou rozmístěny v okolí adipocytů a vytváří tzv. crown-like structures. Vlivem hypertrofie adipocytů dochází k útisku probíhajících krevních kapilár, výsledná hypoxie tukové tkáně je dalším stimulem k infiltraci tukové tkáně imunokompetentními buňkami. Makrofágy se preferenčně shlukují v okolí nekrotických adipocytů, produkují prozánětlivé cytokiny a chemoatraktanty, které dále přispívají k rozvoji sublinického zánětu a dysregulaci hormonální produkce tukové tkáně (upraveno dle Ouchi et al., 2011).



2.5.1.1.4 Faktory podporující diferenciaci M1/M2 makrofágů

Obezita je spojena s preferenční polarizací M1 makrofágů, dochází i ke změně M2 v M1 makrofágy. Nejspíše se jedná o působení nadbytečných nasycených mastných kyselin, které jsou podobně jako LPS schopny vazby na TLR-4 (Toll-like receptory), což vede k polarizaci makrofágů směrem k M1 fenotypu (Lumeng et al., 2007). Může zde, dle některých autorů, fungovat i jakási zpětnovazebná smyčka prozánětlivého parakrinního působení mezi adipocyty a makrofágy. M1 makrofágy jsou v tukové tkáni zdrojem prozánětlivých cytokinů, tyto cytokiny indukují v adipocytech inzulinovou rezistenci. Ta je pak zdrojem nadměrného uvolňování nasycených mastných kyselin z adipocytu, které cestou TLR-4 ovlivňují polarizaci ostatních makrofágů a vedou k další tvorbě zánětlivých cytokinů (Suganami et al., 2007).

Některé transkripční faktory naopak podporují polarizaci M2 makrofágů. Jedním z primárních aktivátorů M2 polarizace je $PPAR\gamma$. Bylo prokázáno, že $PPAR\gamma$ je nutný pro alternativní cestu aktivace makrofágů (studie byly prováděna na periferních monocitech, Kupferových buňkách a arteriálních makrofázích). Deficience $PPAR\gamma$ vede ke zvýšenému zánětlivému potenciálu a snižuje se polarizace M2 makrofágů (Odegaard et al., 2007; Bouhrel et al., 2007). V pokusu vedla terapie $PPAR\gamma$ agonistou rosiglitazonem mj. k akumulaci M2 makrofágů u myši i během vysokotukové diety (Stienstra et al., 2008), obdobná pozorování byla zaznamenána také u *ob/ob* myši (Prieur et al., 2011). Další z jaderných faktorů, $PPAR\delta$, nejspíše také hraje svou úlohu v M2 polarizaci ATM (Odegaard et al., 2008). K polarizaci makrofágů přispívají samozřejmě i adipokiny. Adiponektin je adipokin, který má účinky inzulin-senzitizující, podporuje tvorbu protizánětlivých cytokinů, jeho koncentrace negativně

korelují s celkovou adipozitou organismu (viz výše). V pokusu *in vitro* vedlo vystavení myších a lidských makrofágů působení rekombinantního adiponektinu k posunu obdobnému fenotypu M2 makrofágů (Ohashi et al., 2010). Myši s knock-out genu pro adiponektin mají vyšší zastoupení markerů typických pro M1 makrofágy, znaky M2 jsou významně sníženy. Předpokládá se, že adiponektin ovlivňuje polarizaci makrofágů mechanismem zprostředkovaným PPAR α /STAT6 (Mandal et al., 2011). Nasycené mastné kyseliny jsou impulsem k polarizaci makrofágů směrem k M1 fenotypu, kdežto nenasycené mastné kyseliny (UFA, unsaturated fatty acids) mohou mít vliv opačný. Nejúčinnějším induktorem M2 fenotypu byly v pokusu ω -3 polynenasycené mastné kyseliny (PUFA). Kyseliny eikosapentaenová (EPA) a dokosaheptaenová (DHA) silně stimulují alternativní cestu aktivace makrofágů. V pokusu *in vitro* vedlo podávání EPA a DHA makrofágům k expresi M2 fenotypu, snížení genové exprese prozánětlivých a zvýšení exprese protizánětlivých faktorů (De Boer et al., 2014; Jung et al., 2012). Obdobné výsledky byly dosaženy *in vivo* u hlodavců krmených rybím olejem, kdy došlo k poklesu exprese prozánětlivých faktorů (Todoric et al., 2006), zároveň byl prokázán vzestup hladin adiponektinu (Neschen et al., 2006). Jednoznačný průkaz pozitivního působení PUFA u lidí však stále chybí.

Celkově je problematika jednoznačné fenotypizace mezi M1 a M2 makrofágy v lidské fyziologii a patofyziologii mnohem složitější, než je tomu v pokusech *in vitro* a u hlodavčích modelů. Ukazuje se, že v lidské tukové tkáni jsou zastoupeny M1 i M2 makrofágy. Během zvyšující se adipozity jsou více exprimovány faktory typické pro M2 makrofágy, které jsou ale schopné produkovat i prozánětlivé cytokiny (Zeyda et al., 2007). I zde je tedy nutnost dalšího intenzivního výzkumu k určení přesnějších mechanismů, jakými je zánět v tukové tkáni spouštěn a dále podporován.

2.5.1.1.5 Infiltrace tukové tkáně makrofágy

Rekrutace monocytů a jejich přestup do tukové tkáně, kde se stávají ATM je prvním krokem v indukci subklinického zánětu, který přímo souvisí s rozvojem metabolických komplikací obezity. Faktory podporující nábor imunokompetentních buněk do tukové tkáně obézních a aktivace rezidentních makrofágů v tukové tkáni jsou nejspíše mnohočetné. Uplatňují se signály parakrinní, autokrinní a endokrinní, k rozvoji zánětu přispívají i lokální mechanismy při remodelaci tukové tkáně (např. hyperplazie a hypertrofie adipocytů).

2.5.1.1.6 Chemotaktické faktory v náboru makrofágů

Adipocyty a ATM jsou zdrojem celé řady látek – tzv. chemokinů nebo chemoatraktantů, které podporují aktivaci a přestup monocytů/makrofágů do tukové tkáně. U obézních lidí i hlodavců dochází k významnému zvýšení hladin a genové exprese chemokinů i jejich receptorů (Weisberg et al., 2003; Xu et al., 2003). Velmi silným chemokinem je **MCP-1** (monocyte chemoattractant protein-1, nebo také chemokine ligand 2, **CCL-2**) a jeho receptor CCR2 tvořící tzv. osu MCP-1-CCR2. Tato osa je považována za klíčovou ve stimulaci vstupu monocytů z cirkulace do tkání s následnou přeměnou v tkáňové makrofágy. Myši s cílenou delecí genů pro *Mcp-1* a *Ccr2* mají nižší počet ATM, nižší stupeň zánětu v bílé tukové tkáni a i přes vysokotukovou dietu nevyvinou IR (Kanda et al., 2006; Weisberg et al., 2006). Naopak myši se zvýšenou expresí MCP-1 v tukové tkáni vykazují zvýšené množství ATM a mají IR (Kamei et al., 2006). Sérové koncentrace a exprese MCP-1 v tukové tkáni jsou u pacientů s obezitou významně zvýšeny (Sartipy et al., 2003; Di Giorgio et al., 2005). ATM jsou považovány za hlavní zdroj MCP-1, nicméně zvýšení počtu ATM v případě vysokotukové diety se objevuje minimálně po 8-10 týdnech zvýšeného energetického příjmu (Kintscher et al., 2008). Bylo ale zjištěno, že hladiny MCP-1 v tukové tkáni (zj. ve VAT) stoupají u obézních již před masivní infiltrací tukové tkáně makrofágy (Nguyen et al., 2007). Vznikla tedy otázka prvotního zdroje MCP-1. Objevily se studie, které v podmínkách *in vitro* poukazovaly na fakt, že možným zdrojem MCP-1 jsou v časných fázích obezity buňky stromální vaskulární tkáně (Gao et al., 2013). Až recentně bylo potvrzeno, že zdrojem MCP-1 jsou v počátcích obezity progenitorové adipocytární buňky, tedy samotné preadipocyty (Kaplan et al., 2015). Aktuální práce však také ukazují, že MCP-1 nebude hlavním faktorem pro rozvoj inzulinové rezistence asociované s obezitou, jak bylo původně předpokládáno a problematika je mnohem komplexnější. Ačkoliv myši *Ccr2*^{-/-} na vysokotukové dietě mají menší zastoupení ATM ve WAT ve srovnání s divokým typem myši, deficience CCR2 nevede k takovému poklesu počtu ATM a parametrů IR na úroveň štíhlých myši (Kirk et al., 2008). Nábor makrofágů do tukové tkáně je tedy zprostředkován. **CCL3** nebo také **MIP-1** (macrophage inflammatory protein-1) je CC chemokinem, který má zvětšenou genovou expresi ve WAT obézních myši i lidí. Hladiny CCL3 jsou výrazně zvýšené ve WAT transgenních *ob/ob* a *db/db* myši (Jiao et al., 2009). U lidí byly zjištěny zvýšené exprese CCL3 a jeho receptorů CCR1 a CCR5 jak v podkožním, tak v omentálním tuku při obezitě (Huber et al., 2008). Míra exprese CCL3 a CCR1 ve WAT pozitivně korelovala s hladinou inzulinu nalačno. Mezi další CC chemokiny patří i **CCL5**, jehož gen má největší expresi

v lidských adipocytárních progenitorových buňkách a je spojen s náborem cirkulujících monocytů do WAT (Keophiphath et al., 2010). **LTB₄** je prozánětlivým mediátorem lipidové povahy, který vzniká z kyseliny arachidonové. Je ve zvýšené míře produkován aktivovanými leukocyty a podporuje chemotaxi dalších imunokompetentních buněk a produkci prozánětlivých cytokinů (Yokomizo et al., 1997). **MIF** (macrophage migration inhibitory factor) je multifunkční prozánětlivý cytokin. Hlavním zdrojem MIF jsou makrofágy, k jeho uvolňování dochází po stimulaci LPS, TNF- α , INF γ . MIF vykazuje parakrinní i autokrinní účinky (Calandra et al., 1994; Calandra, Roger, 2003). MIF umocňuje zánět v tukové tkáni zvyšováním migrace, náboru a aktivace leukocytů, zvýšením exprese adhezivních molekul jako je ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) a MCP-1 (Toso et al., 2008). I přes tato zjištění ukázala recentní práce Conine a Crosse, že MIF^{-/-} myši nevykazují proti divokému typu (wild type, WT) myši zásadní snížení počtu ATM při vysokotukové dietě (Conine, Cross, 2013). Mezi další chemokiny, které ovlivňují nábor monocytů do tukové tkáně jsou řazeny CX3CL (nebo také fraktalkín), CXCL14, osteopontin, CSF-3 (colony stimulating factor 3, kolonie stimulující faktor 3) nebo AIM/CD5L (apoptosis inhibitor of macrophage, inhibitor apoptózy makrofágů). Celkově je však chápáno, že chemokiny mají částečně se překrývající funkce v širokém a komplexním *in vivo* prostředí a celý proces rekrutace monocytů/makrofágů a další udržování zánětu je velice komplikovaný děj, který je ovlivňován celou řadou dalších faktorů. Uplatňují se adipokiny a nerovnováha jejich hladin u obézních – například leptin je faktorem podporujícím tvorbu prozánětlivých cytokinů. Ukázalo se, že je i potentním chematraktantem pro monocyty. Curat a kol. prokázali, že leptinem aktivované endoteliální buňky indukují přestup monocytů z cirkulace do tkání (Curat et al., 2004), podmínkou je přítomnost leptinového receptoru na migrujících buňkách (Gruen et al., 2007). Novější studie ukazují, že myši s knock-out genem LepR^{-/-} mají nižší hmotnostní přírůstek a počet ATM při vysokotukové dietě (Dib et al., 2014). Adiponektin, jehož hladiny jsou u obézních a diabetiků 2. typu sniženy, naopak podporuje switch polarizace makrofágů k M2 fenotypu, který je spojován s remodelací tkání. Navíc v pokusu *in vitro* na kulturách aortálních buněk adiponektin zabraňuje přestupu monocytů přes endotel (Ouchi et al., 2003).

2.5.1.1.7 Další faktory podporující infiltraci tukové tkáně makrofágy

Příčin rozvoje zánětu v tukové tkáni je nejspíše mnoho, jako jeden z možných faktorů se jeví **hypoxie v tukové tkáni**. V případě zvětšování množství tukové tkáně dochází k hypertrofii i hyperplazii adipocytů, ačkoliv v dospělosti převažuje spíše hypertrofie. Byly formulovány hypotézy, které předpokládají, že v případě expanze tukové tkáně dochází k hypoxii

adipocytů, která indukuje kompenzatorní angiogenezu. Hypoxie je pouze lokální, omezená na tuková depa. Nejspíše vzniká při relativním snížení krevní perfúze masivní expanzí tukové tkáně (Hosogai et al., 2007). Makrofágy jsou pak přitahovány do tukové tkáně k ulehčení vaskularizačního procesu a odklizení apoptotických buněk (Pang et al., 2008; Strissel et al., 2007). V tukové tkáni obézních jedinců je zvýšená exprese genů pro proteiny typické u hypoxie, například HIF-1 α (hypoxií indukovaný faktor-1 α , hypoxia-inducible factor-1 α). Dále je zvýšená exprese genů i pro VEGF (vascular endothelial growth factor), glukózový transportér 1 (GLUT1), hem oxygenázu 1 (HO-1) a pyruvát dehydrogenázu kinázu 1 (PDK1) (Semenza, 2002; Papandreou et al., 2006). HIF-1 α je hlavním mediátorem v přenosu signálu při hypoxii. V primárních buněčných kulturách lidských adipocytů byla exprese HIF-1 α indukována hypoxií (Wang et al., 2007). Hypoxie také v tkáňových kulturách adipocytů indukovala zvýšenou expresi prozánětlivých cytokinů (např. TNF- α , IL-6, MCP-1), zároveň došlo ke snížení genové exprese pro adiponektin. Na myším modelu obezity bylo prokázáno, že koncentrace makrofágů byla v tukové tkáni nejvyšší v místech s nejnižším parciálním tlakem kyslíku (Rausch et al., 2008). Hypoxií je také aktivován NF- κ B (Ye et al., 2007). NF- κ B je považován za hlavní regulační faktor zánětlivé odpovědi, NF- κ B kontroluje transkripci celé řady prozánětlivých cytokinů (jako je TNF- α , IL-1, IL-6) a zánětlivých mediátorů (iNOS, VCAM) (Ghosh, Karin, 2002). **Stres endoplazmatického retikula (ER)** je považován za rizikový faktor rozvoje IR a poprvé byl popsán v tukové tkáni obézních myši v r. 2004 (Ozcan et al., 2004). Stres ER, který byl prokázán v játrech a tukové tkáni obézní myši, je nejspíše spouštěn nadměrným přívodem a uskladňováním lipidů v těchto tkáních. ER stres spouští aktivaci několika odlišných transmembránových proteinů, následně je aktivován mimo jiné i NF- κ B, který poté vede k produkci prozánětlivých cytokinů a také volných kyslíkových radikálů (reactive oxygen species, ROS). Touto cestou je přes serinovou fosforylaci IRS inhibována signalizace z inzulinového receptoru (Ozcan et al., 2004). Odstranění stresu ER transgenními nebo chemickými inhibitory chránilo obézní myši před rozvojem IR (Ozawa et al., 2005; Ozcan et al., 2006). Stres ER také patrně ovlivňuje expresi GLUT4 (glukózový transportér 4) v adipocytech (Miller et al., 2007).

2.5.1.2 Ostatní imunokompetentní buňky v tukové tkáni

V tukové tkáni se nenachází pouze monocyty/makrofágy, ale i další imunokompetentní buňky hrající úlohu jak ve vrozené, tak získané imunitě.

2.5.1.2.1 Buňky vrozené imunity

Eozinofily, buňky doposud spojované zejména s alergickými reakcemi, parazitárními infekcemi a bronchiálním astmatem jsou také detekovatelné v tukové tkáni. Recentní studie ukazují, že eozinofily mohou mít v tukové tkáni protizánětlivé účinky (Wu et al., 2011). Eozinofily produkují prozánětlivé (např. IL-1 β , IL-6, TNF- α , INF γ) i protizánětlivé cytokiny (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, TGF- β). Úloha eozinofilů v chronickém zánětu u obézních není zcela jasná, zdá se, že mají imunomodulační úlohu, podporují M2 polarizaci makrofágů v tukové tkáni uvolňováním protizánětlivých cytokinů (IL-4, IL-10, IL-13). Počet eozinofilů je v případě obezity v tukové tkáni redukován, procentuálně vyšší zastoupení mají eozinofily ve viscerální tukové tkáni proti podkožním tukovým depozitům (Spencer et al., 2009). U obézních myši počty eozinofilů v tukové tkáni negativně korelují s celkovým množstvím tukové tkáně a parametry inzulínové rezistence (Wu et al., 2011). **Neutrofil** infiltrují místo zánětu jako jedny z prvních imunokompetentních buněk, jedná se o přechodný jev zánětlivé odpovědi organismu. V místě zánětu stimulují produkci zánětlivých cytokinů a chemoatraktantů jako jsou MCP-1 a TNF- α (Jaillon et al., 2013; Amulic et al., 2012). V tukové tkáni je další nábor neutrofilů zprostředkován cytokiny produkovanými ATM. Takto aktivované neutrofilové buňky poté produkují cytokiny s cílem rekrutace dalších myeloidních buněk – T a B lymfocytů (Mráz, Haluzík, 2014). Neutrofilové buňky se uplatňují zejména v prvních fázích zánětlivé reakce a nejspíše mají úlohu v časných stádiích obezity. U myši na vysokotukové dietě jsou neutrofilové buňky detekovatelné jen v iniciační fázi hmotnostního přírůstku, po týdnů vysokotukové diety jsou v tukové tkáni již téměř nezjistitelné (Talukdar et al., 2012). Zdá se, že neutrofilové buňky iniciačně indukují polarizaci makrofágů k M1 fenotypu, tomu odpovídá i časný nárůst koncentrací TNF- α a IL-6 (Elgazar-Carmon et al., 2008). V tukové tkáni štíhlých jedinců jsou počty neutrofilů minimální. **NK buňky** (natural killers, přirození zabíječi) jsou řazeny mezi buňky vrozené i adaptivní imunity. NK buňky jsou v krvi obézních jedinců aktivované (O'Rourke et al., 2009), nicméně jejich úloha v tukové tkáni je stále nejasná. Jejich zastoupení v tukové tkáni je relativně malé, avšak NK buňky v tukové tkáni vykazují rozdílné znaky než cirkulující NK buňky (O'Rourke et al., 2009). V tukové tkáni jsou zastoupeny CD56^{světlé} NK buňky, které produkují INF γ a TNF- α (O'Rourke et al., 2013). Aktivace NK buněk je stimulována narůstající obezitou, což bylo prokázáno díky expresi odlišných aktivačních markerů NK buněk nacházených u obézních vs. u štíhlých jedinců (O'Rourke et al., 2013). Přesný význam NK buněk v tukové tkáni je však předmětem dalšího výzkumu.

2.5.1.2.2 Buňky získané imunity

Získaná imunita v organismu funguje jako druhá obranná linie, která pomáhá eliminovat patogeny a také zajišťuje rozpoznáváním antigenů a produkcí protilátek dlouhodobou imunitní odpověď. Hlavními efektorovými buňkami jsou T a B lymfocyty a NK T-buňky. **T-lymfocyty** jsou nosiči buněčné imunitní odpovědi. V organismu je přítomno několik typů T-lymfocytů: T_H -lymfocyty ($CD4^+$ T-buňky mající podskupiny T_H1 , T_H2 a T_H17), cytotoxické T-lymfocyty ($CD8^+$) a regulační T-lymfocyty (T_{reg}). Při expanzi tukové tkáně dochází k preferenční infiltraci tukové tkáně prozánětlivými typy $CD4^+$ T-lymfocytů, kterými jsou T_H1 a T_H17 , ve zvýšeném množství jsou nacházeny i cytotoxické $CD8^+$ buňky (Nishimura et al., 2009). Naproti tomu v tukové tkáni štíhlých jedinců převažují protizánětlivě působící T_H2 a T_{reg} lymfocyty (Feuerer et al., 2009). Prozánětlivé cytokiny ($INF\gamma$, IL-17) produkované T_H1 , T_H17 a $CD8^+$ buňkami v tukové tkáni obézních pacientů jsou faktorem přispívajícím k polarizaci ATM v zánětlivý M1 fenotyp (viz výše), $INF\gamma$ má také úlohu v rekrutaci cirkulujících monocytů do tukové tkáně. Naopak T_H2 -lymfocyty produkují protizánětlivé cytokiny IL-4 a IL-13, IL-10 je produkován T_{reg} buňkami. Tyto cytokiny nejspíše působí jako stimul k M2 fenotypové polarizaci ATM. T-lymfocyty jsou po makrofázích nejpočetnější skupinou imunokompetentních buněk zastoupenou v tukové tkáni obézních. Vzájemné působení mezi jednotlivými subtypy T buněk je velmi komplexní, jedná se o významný faktor v rozvoji subklinického zánětu asociovaného s obezitou. Zároveň bylo prokázáno, že změna v zastoupení jednotlivých podskupin T-lymfocytů v tukové tkáni u obézních významně koreluje s rozvojem IR. Vzestup prozánětlivých $CD4^+$ T_H1 -lymfocytů je spojen s IR. Naopak zvýšení zastoupení T_H2 -lymfocytů je doprovázeno zlepšením parametrů IR (Winer et al., 2009). **B-lymfocyty** obdobně jako T-lymfocyty vykazují prozánětlivé i protizánětlivé znaky. Bylo prokázáno, že B-lymfocyty nacházené v tukové tkáni mají jiný fenotyp než B-buňky v ostatních tkáních (Shaikh et al, 2015). B-lymfocyty v tukové tkáni lze rozdělit na B-1, B-2 a B-regulační (B_{reg}) buňky. B-1 buňky se dále dělí na B-1a a B-1b podtypy (Haas et al., 2005). Oba podtypy B-1 buněk jsou považované za prozánětlivé faktory, kdežto B_{reg} jsou považovány za buňky s protizánětlivou aktivitou. B-2 lymfocyty mohou působit proti- i prozánětlivě. Výsledky recentních studií naznačují, že B-lymfocyty přispívají k subklinickému zánětu spojenému s obezitou a jejími metabolickými komplikacemi. B-lymfocyty v tukové tkáni produkují cytokiny a protilátky, které modulují funkci a aktivitu T-lymfocytů a ATM (Winer et al., 2011; Kaminski, Randall, 2010; Sun et al., 2012). **NK T-lymfocyty** (NKT lymfocyty) jsou v podstatě T-lymfocyty, které mají vyjádřené i znaky

typické pro NK buňky. Mají schopnost po stimulaci produkovat velice rychle cytokiny, čímž hrají důležitou úlohu v zahájení imunitní odpovědi dalšími buňkami (NK buňky, T-lymfocyty, B-lymfocyty). Jejich úloha v rozvoji obezity a jejích komplikací je stále nejasná. V kontextu zánětu v tukové tkáni jsou zkoumány 2 podtypy NKT buněk, NKT buňky typu I (klasické, invariantní, CD 1d omezené) a NKT buňky typu II (neklasické, CD 1d reaktivní). NKT typu I je díky produkci protizánětlivých cytokinů (IL-4, IL-10 a IL-13) spojen s M2 polarizací ATM, aktivací T_{reg} a T_H2 lymfocytů. NKT I. typu však mohou produkovat i prozánětlivé cytokiny jako je $TNF-\alpha$ a $INF\alpha\gamma$, čímž se aktivují M1 polarizaci a T_H1 lymfocyty (Rakhshandehroo et al., 2013; Kondo et al., 2013). Mechanismus vedoucí ke stimulaci NKT I. typu k tvorbě proti- či prozánětlivých faktorů je však neznámý. NKT II. typu jsou v tukové tkáni obézních nacházeny ve vyšším množství, produkují T_H1 prozánětlivé cytokiny $\alpha\alpha$ a $INF\gamma$ (Satoh et al., 2012). NKT buňky I. typu jsou spojovány se zlepšením parametrů IR (Lynch, 2014). U obézních jedinců jsou počty NKT I. typu v tukové tkáni výrazně sniženy (Lynch et al., 2012). Zvýšené počty NKT buněk II. typu jsou spíše spojovány s expanzí tukové tkáně a zhoršením glukózové tolerance (Satoh et al., 2012). Úloha NKT buněk v rozvoji obezity a jejích komplikací je stále z velké části nejasná a vyžaduje další výzkum.

Celkově je přijímáno, že interakce mezi jednotlivými imunokompetentními buňkami vrozené i získané imunity jsou velice komplexní, v této oblasti stále probíhá rozsáhlý výzkum, neboť lepší pochopení imunitních pochodů v tukové tkáni a možnosti jejich ovlivnění by bylo přínosem v terapii obezity a jejích komplikací.

2.5.2 $TNF-\alpha$

Již v průběhu 80. let minulého století byl popsán makrofágy produkováný působek, který byl pro své metabolické účinky nazván kachektin (Torti et al., 1985). Zároveň byl zkoumán $TNF-\alpha$ jako cytotoxický, anti-tumorózní a prozánětlivý faktor. Následně bylo zjištěno, že kachektin a $TNF-\alpha$ jsou identické proteiny a název kachektin byl v podstatě opuštěn. $TNF-\alpha$ byl na počátku devadesátých let minulého století prvním cytokinem identifikovaným v tukové tkáni obézních myší, tento objev poté odstartoval celý koncept subklinického zánětu spojeného s metabolickými onemocněními (Hotamisligil et al., 1993). Efekt $TNF-\alpha$ v patogenezi vzniku IR byl potvrzen studií, kdy podávání $TNF-\alpha$ interferovalo s přenosem signálu z inzulínového receptoru, respektive blokovalo inzulínovou signalizační kaskádu a tím účinky inzulínu (Hotamisligil et al., 1994). $TNF-\alpha$ působí cestou 2 receptorů, v tukové tkáni převažuje

aktivace subtypu 1 TNF- α receptoru, TNFR1 (TNF- α receptor 1 subtype). Touto cestou je jednak aktivována dráha JNK1(c-Jun N-terminální kináza) a zároveň je inhibována dráha I κ B kinázy(IKK)/NF κ B (nukleární faktor kappa B). JNK1 může přímo inhibovat signalizaci z iR fosforylací substrátu 1 inzulínového receptoru (IRS1) na serinová rezidua. Podobně jako JNK1 může přímo inhibovat serinovou fosforylací i IKK, což zároveň vede k aktivaci NF κ B a zvýšené produkci zánětlivých cytokinů v myeloidních buňkách (Gao et al., 2002). Obézní myši s vyřazením genu pro TNF- α nebo jeho receptor byly chráněné před rozvojem IR a hyperglykémie (Uysal et al., 1997). Systémová nebo cílená inhibice IKK v hepatocytech nebo v myeloidních buňkách vede u myších modelů také ke zlepšení parametrů glukózového metabolismu (Arkan et al., 2005; Cai et al., 2005). Recentně bylo zjištěno, že TNF- α pravděpodobně zvyšuje expresi leptinového receptoru (Gan et al., 2012), leptin naopak zvyšuje tvorbu prozánětlivých cytokinů a uvolňování TNF- α z thymu, tím tedy dochází k další potenciaci zánětu v organismu. Jak již bylo zmíněno, hlavním zdrojem TNF- α v tukové tkáni jsou rezidentní ATM makrofágy. Bylo zjištěno, že uvolnění volných mastných kyselin (FFA) – další z faktorů ovlivňující vznik IR, je silným stimulem k tvorbě TNF- α v makrofázích (Nguyen et al., 2005). TNF- α na druhé straně stimuluje lipolýzu v tukové tkáni, což vede ke zvýšenému uvolňování FFA z adipocytů (Wang et al., 2008). Je v podstatě generován další bludný kruh, který přispívá k rozvoji zánětu a IR.

2.5.3 IL-6

IL-6 je velmi potentním prozánětlivým cytokinem, který má pravděpodobně souvislost s rozvojem IR u obézních. Předpokládá se, že až třetina sérových koncentrací IL-6 má svůj původ v tukové tkáni (Fried et al., 1998), IL-6 je tvořen i v kosterním svalstvu. Úloha IL-6 v metabolismu glukózy a rozvoji IR však ještě nebyla plně prozkoumána a stále panují určité kontroverze. Během fyzické zátěže a cvičení je IL-6 uvolňován zejména z kosterního svalstva. Předpokládá se, že IL-6 uvolňovaný z pracujícího svalu je jedním z faktorů, které mají prospěšné působení na metabolismus včetně zvýšeného vychytávání glukózy a oxidace mastných kyselin (Febbraio, Pedersen, 2002). V pokusech na hlodavcích bylo naopak ukázáno, že IL-6 tlumí inzulínem stimulované metabolické procesy v hepatocytech mechanismem zvýšení exprese SOCS3 (supresor of cytokine signaling-3, supresor 3 cytokinové signalizace) (Senn et al., 2003). Infuze IL-6 u myši inhibuje schopnost inzulínu snižovat jaterní glukoneogenezi (Kim et al., 2004). Na druhou stranu u myši na vysokotukové dietě systémová deficeience IL-6 zhoršuje jaterní inzulínovou rezistenci a podporuje subklinický zánět (Matthews et al., 2010), cílené snížení koncentrace IL-6 (ablací JNK) je

ochranným faktorem před rozvojem IR modulací exprese SOCS3 v játrech (Sabio et al., 2008). Výše popsané dvojjaké působení IL-6 může být dáno jeho rozdílným efektem v jednotlivých orgánech nebo také jeho odlišným zdrojem (tuková tkáň/kosterní sval). U lidí sérové koncentrace IL-6 pozitivně korelují s celkovým množstvím tukové tkáně (Fried et al., 1998) a s parametry IR (Spranger et al., 2003), redukce hmotnosti vede k poklesu hladin IL-6 (Esposito et al., 2003). Výsledky studií na hlodavcích tedy nemohou být plně extrapolovány na lidské jedince, a to i pro fakt, že je relativně nízká shoda mezi lidským a hlodavčím IL-6. Je nutný další výzkum, který plně objasní funkci IL-6 v patofyziologii IR u lidí a určí význam IL-6 jako potenciálního terapeutického cíle.

3 ÚLOHA MITOCHONDRIÍ V PATOGENEZI OBEZITY A DIABETES MELLITUS 2. TYPU

3.1 Mitochondrie

Mitochondrie jsou evolučně velice staré buněčné organely. Jen několik let po objevení buněčného jádra byly v roce 1840 poprvé popsány buněčné struktury odpovídající mitochondriím (Ernster, Schatz, 1981). V roce 1890 je Richard Altmann uznal jako buněčné organely a nazval je bioblasty. Termín mitochondrie je odvozen z řečtiny (mítos – vlákno, chondros – zrnitý, granulární) a poprvé byl použit Bendou o 9 let později. Výzkumu role mitochondrií v buněčné biologii byl pak věnován rozsáhlý výzkum. V roce 1925 po objevení cytochromů Davidem Keilinem byl popsán respirační řetězec, avšak k plnému pochopení úlohy mitochondrií v energetickém metabolismu organismu došlo až v 50. letech 20. století. Dále pak probíhal výzkum mitochondriální biogeneze. Nyní jsou soustředěny rozsáhlé výzkumné snahy na pochopení úlohy mitochondrií v rozvoji různých patofyziologických procesů, nejnověji jsou mitochondrie zkoumány v souvislostech se vznikem metabolických onemocnění, včetně diabetes mellitus a obezity.

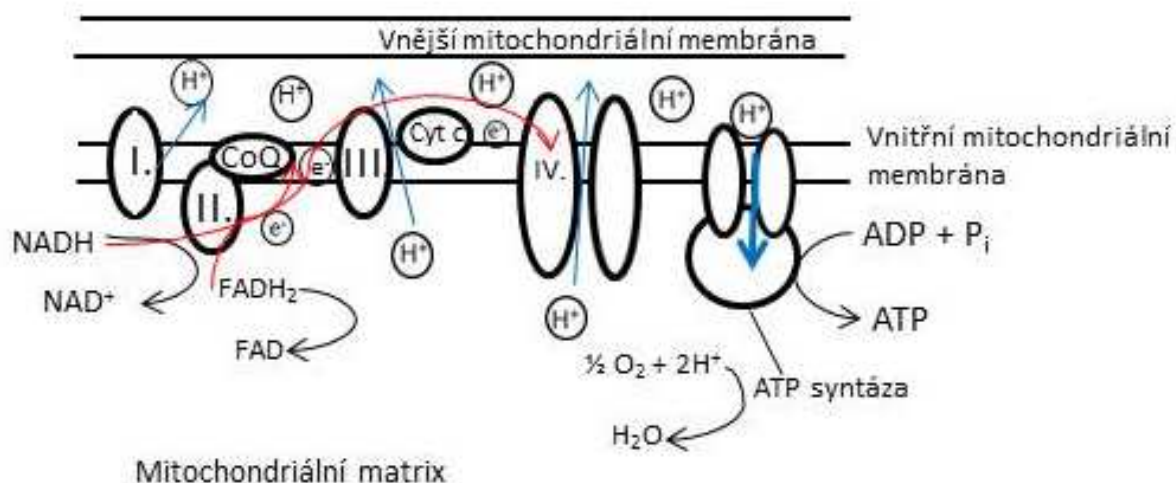
3.2 Fyziologie mitochondrií

Mitochondrie obsahuje každá eukaryotická buňka. Buňka může obsahovat několik stovek až tisíců mitochondrií v závislosti na energetických potřebách a aktivitě buňky. Mitochondrie jsou volně uloženy v cytosolu, nebo jsou vzájemně propojeny a vytváří tzv. mitochondriální buněčnou síť. Mitochondrie zprostředkují metabolické pochody a chemické reakce, které jsou hlavním zdrojem energie pro lidský organizmus, proto jsou také nazývány „buněčnými elektrárnami“ (Duchene, 2004). Mitochondrie tvoří ze substrátů, jakými jsou tuky a sacharidy,

adenosin-tri-fosfát (ATP), který slouží v lidském organismu jako univerzální zdroj energie. Mitochondrie jsou tvořeny matrix, který je vysoce metabolicky aktivním kompartmentem organely, a membránami. V mitochondriální matrix jsou lokalizovány enzymy citrátového cyklu a β -oxidace mastných kyselin zajišťující hlavní zpracování přijatých živin intracelulárně. V matrix je uložena i genetická informace ve formě DNA a RNA. Mitochondriální proteiny a enzymy respiračního řetězce jsou částečně kódovány buněčnou DNA, a částečně vlastní, mitochondriální DNA (mtDNA). Mitochondriální DNA kóduje 13 proteinových podjednotek enzymů respiračního řetězce. Kóduje také mitochondriální ribozomální a transferovou RNA. Mitochondrie se dále skládá z vnitřní a vnější membrány. Vnější membrána je charakterizována přítomností enzymu monoaminoxidázy, jsou zde lokalizovány enzymy metabolismu fosfolipidů a enzymy prodlužující řetězce mastných kyselin. Vnější membrána má větší propustnost než membrána vnitřní, zejména díky přítomnosti porinů. Vnitřní mitochondriální membrána je složena do tzv. krist, které umožňují zvětšení povrchu membrány. Počet krist a tedy i celkový povrch vnitřní membrány je závislý na respirační aktivitě buňky - čím je buňka aktivnější, tím více krist vnitřní mitochondriální membrána vytváří (Ledvina a kol., 2003). Na vnitřní membráně jsou lokalizovány přenašeče tvořící respirační řetězec a také enzym ATP-syntáza, který je klíčový v procesu tvorby ATP. Tvorba ATP je složitá kaskáda reakcí, která je finálně umožněna enzymy respiračního řetězce umístěného na vnitřní mitochondriální membráně. Respirační řetězec (electron transport chain) je souběh oxido-redukčních reakcí zprostředkovaný redoxními páry (přenašeči), které postupně odebírají oxidovatelným substrátům vodíkové ionty. Hlavními přenašeči v respiračním řetězci jsou pyridinové dehydrogenasy (lokalizované v mitochondriální matrix), jejichž kofaktorem je nikotinamidadenindinukleotid (NAD^+). Dále se uplatňují flavinové dehydrogenasy s kofaktorem flavinadenindinukleotidem (FAD^+). Přenašeče umístěné na samotné vnitřní mitochondriální membráně jsou ubiquinon, neboli koenzym Q, cytochromy (cytochromy a-c) a cytochromoxidasa (cytochrom aa₃). Přenašeče tvoří spolu s proteiny obsahujícími síru a nehemové železo (FeS) protein-lipidové komplexy respiračního řetězce I - IV (Murray et al., 1993). Komplexy jsou v respiračním řetězci řazeny se vzestupnou tendencí, tedy se stoupajícím redukčním potenciálem, který spolu s významnou selektivitou vnitřní mitochondriální membrány vytváří elektrochemický protonový gradient. Tento gradient umožňuje vodíkovým iontům (protony vodíku, H^+), které vznikají při redukčních reakcích na jednotlivých komplexech respiračního řetězce, prostupovat do intermembranozního prostoru. Komplexy fungují jako čerpadla a jsou tedy označovány protonovou pumpou respiračního řetězce. Vnitřní membrána je pro protony neprostupná, hromadí se protony vně

membrány tvoří elektrochemický potenciál napříč respiračním řetězcem, který je i hnací silou ATP-syntázy. Vodíkové ionty prochází z intermembranozního prostoru po směru svého koncentračního gradientu nejčastěji hlavní cestou, a to přes kanál tvořený ATP-syntázou (také označována jako komplex V respiračního řetězce). Proces oxidace je stupňovitý a postupně dochází k uvolňování energie, která je transformována aerobní fosforylací do molekul ATP (Murray et al., 1993). Oxidativní fosforylace může být odpojena od syntézy ATP pomocí rozpojovacích proteinů (uncoupling proteins, UCP), které zvyšují permeabilitu vnitřní mitochondriální membrány a umožňují průchod protonů bez aktivace ATP-syntázy. Vzniklá energie z koncentračního gradientu je uvolňována ve formě tepla. Jsou popsány 3 typy odpřehujících proteinů v lidském organismu, UCP 1-3. UCP 2 a 3 jsou exprimovány v mitochondriích různých buněk organismu, UCP 1 se nachází výhradně v mitochondriích adipocytů hnědé tukové tkáně a umožňuje tvorbu tepla v procesu netřesové termogeneze (viz 2.1). Oxidativní kapacita mitochondrií je určena mírou exprese enzymů a jejich komplexů, které jsou součástí procesu oxidativní fosforylace. Důležitá je také velikost a četnost mitochondrií (Ritz, Berrut, 2005).

Obrázek 4 Mitochondriální respirační řetězec. Na vnitřní mitochondriální membráně jsou lokalizovány enzymatické komplexy (I – IV) tvořící přenašeče elektronů a ATP syntáza, ústřední enzym tvorby energie ve formě ATP. Komplexy jsou v respiračním řetězci řazeny se stoupajícím redukčním potenciálem, který spolu s významnou selektivitou vnitřní mitochondriální membrány vytváří elektrochemický protonový gradient. Tento gradient umožňuje vodíkovým iontům (H^+), které vznikají při redukčních reakcích na jednotlivých komplexech respiračního řetězce, prostupovat do intermembranozního prostoru. Kumulující se protony vodíku tvoří elektrochemický potenciál napříč respiračním řetězcem, který je hnací silou ATP-syntázy. Vodíkové ionty prochází z intermembranozního prostoru po směru svého koncentračního gradientu přes kanál tvořený ATP-syntázou, což je doprovázeno vznikem energie ve formě makroergních vazeb ATP.



3.2.1 Mitochondrie a vznik reaktivních forem kyslíku

Mitochondrie neslouží pouze jako producenti energie, ale jsou také místem vzniku velké části reaktivních forem kyslíku (ROS), neboli volných kyslíkových radikálů. Mezi ROS patří superoxid ($O_2^{\cdot-}$), hydroxylový radikál (OH^{\cdot}), hydroxyperoxyl (HO_2^{\cdot}). Reaktivní formy dusíku (reactive nitrogen species, RNS, spolu s ROS označovány jako RONS) jsou taktéž řazeny mezi volné radikály (oxid dusnatý - NO^{\cdot} , oxid dusičitý - NO_2^{\cdot}) (Štípek a kol., 2000). Volné radikály mají v organismu mnoho funkcí fyziologických, uplatňují se ale také v pochodech patofyziologických. Volné radikály jsou v organismu využívány běžně k hydroxylaci řady endogenních a exogenních látek včetně léků. Hydroxylace pomocí OH^{\cdot} je také součástí syntézy cholesterolu a žlučových kyselin (Štípek a kol., 2000). RONS jsou nutné pro správnou funkci makrofágů a fagocytů, umožňují obranu organismu proti bakteriím a cizorodým strukturám, což bylo rozpoznáno již před mnoha lety (Babior, 1978). Volné radikály v organismu mohou fungovat také jako signální molekuly v intracelulárních signálních drahách (Laderoute, Webster, 1997; Huang et al., 2016). V patofyziologii se uplatňuje poškození lipidů (lipoperoxidace), proteinů i enzymů ROS. Poškození volnými radikály vzniká ve chvíli, kdy je prolomena antioxidační ochrana organismu tvořená systémem lapačů (scavengerů), antioxidačně působících látek (vitamín C a E, glutathion, kyselina lipoová) a antioxidačních enzymů (superoxiddizmutáza, SOD; kataláza), je porušena rovnováha mezi vznikem a odklizením RONS. Nahromadění RONS v organismu je poté označováno jako oxidační stres. Oxidační stres je dáván do spojitosti s mnoha patologickými procesy a onemocněními, mimo jiné kardiovaskulárními, metabolickými a chronickými záněty. Poškození oxidačním stresem také souvisí s procesem stárnutí a karcinogeneze.

V buňkách jsou hlavními producenty ROS mitochondrie, respektive respirační řetězec jako takový (Štípek a kol., 2000). V respiračním řetězci je tvořen superoxid a následně i peroxid vodíku (H_2O_2), který není radikálem, ale účastní se dalších reakcí, ve kterých volné radikály vznikají. Je odhadováno, že 1-4% kyslíku účastnícího se procesu oxidativní fosforylace je neúplně redukováno a dává vznik ROS. Za hlavní producenty ROS v respiračním řetězci jsou komplex I (NADH-koenzym Q reduktáza) a komplex III (ubichinol-cytochrom c-reduktáza) (Kim et al., 2008). Mitochondrie je za fyziologických podmínek vybavena velmi silnou SOD, ale ve chvíli, kdy produkce ROS prudce stoupne, není antioxidační ochrana dostatečná a dochází k poškození mitochondriálních membrán lipoperoxidací, je poškozena také mtDNA. Hromadění mutací mtDNA pak podporuje další produkci ROS v mitochondrii.

3.3 Patofyziologie mitochondrií - mitochondriální dysfunkce v tukové tkáni

Úloha mitochondriální dysfunkce se zvýšenou tvorbou ROS a oxidační stres jsou v poslední době velmi diskutované faktory, které nejspíše přispívají k rozvoji IR a vzniku DM 2. typu. Studie na zvířecích modelech, *in vitro* studie na kulturách lidských adipocytů i výsledky pozorování u pacientů s metabolickými onemocněními podávají stále silnější evidenci o klíčové úloze mitochondrií tukové tkáně v rozvoji metabolických onemocnění. Transgenní *ob/ob* a *db/db* myši (genetické modely obezity a diabetu) mají v adipocytech menší počet mitochondrií, které mají sníženou oxidativní kapacitu (Wilson-Fritch et al., 2003; Wilson-Fritch et al., 2004; Choo et al., 2006). Dále bylo také prokázáno, že mitochondrie u těchto hlodavčích modelů mají v bílé tukové tkáni výrazně snížený obsah mtDNA (Rong et al., 2007). Nicméně se zdá, že změny v mtDNA nejsou způsobeny jen prostou obezitou, ale souvisí také s rozvojem diabetes mellitus 2. typu (Dahlman et al., 2006). Obézní myši krmené vysokotukovou dietou a *db/db* myši mají v tukové tkáni sníženou expresi genů klíčových pro správnou funkci mitochondrií a jejich respiračního řetězce (Keller, Attie, 2010; Devarakonda et al., 2011). I další studie na hlodavcích krmených vysokotukovou dietou prokazují, že mitochondriální dysfunkce může být důsledek poklesu systémové inzulínové senzitivity a glukózové tolerance (Sutherland et al., 2008; Wang et al., 2014). Tato hypotéza je podporována i příznivým účinkem inzulínového senzitizeru rosiglitazonu (PPAR- γ agonista) na mitochondriální dysfunkci v tukové tkáni u těchto hlodavců (Wilson-Fritch et al., 2003; Choo et al., 2006). Výsledky studií poukazují na fakt, že pacienti s obezitou a diabetes mellitus 2. typu mají snížený počet a velikost mitochondrií v kosterním svalstvu (Morino et al., 2005; Kelley, 2002). U těchto jedinců byla také popsána porucha oxidativní fosforylace se

sníženou produkcí ATP (Petersen et al., 2004). Doposud je relativně málo známo o funkci mitochondrií v tukové tkáni. Viscerální tuková tkáň je metabolicky vysoce aktivním orgánem, je zde oproti podkožní tukové tkáni vyšší počet mitochondrií, které jsou i biologicky více aktivní (Kraunsoe et al., 2010). Obézní a inzulin-rezistentní pacienti mají v tukové tkáni sníženou expresi genů kódujících proteiny začleněné do respiračního řetězce a procesu oxidativní fosforylace (Mootha et al., 2003; Dahlman et al., 2006). Chattopadhyay a kol. také pozorovali u mitochondrií izolovaných z podkožního tuku obézních jedinců s a bez DM 2. typu sníženou aktivitu komplexů I-IV respiračního řetězce (Chattopadhyay et al., 2011). V této studii nebyly zaznamenány signifikantní rozdíly v aktivitě komplexů respiračního řetězce mezi jedinci s prostou obezitou proti obézním diabetikům 2. typu. Dahlman a kol. proti tomu pozorovali snížení exprese genů proteinů oxidativní fosforylace ve viscerální tukové tkáni žen s DM 2. typu bez závislosti na současné obezitě (Dahlman et al., 2006). Rozdíly mezi těmito pracemi mohou souviset s jinou metodikou studií a použití mitochondrií adipocytů z rozdílných tukových depot (podkožní vs. viscerální). Přesné mechanismy vedoucí ke snížení mitochondriální oxidativní kapacity v bílé tukové tkáni stále nejsou jasné. Je zvažováno působení subklinického zánětu, vyšší oxidativní poškození, stres endoplazmatického retikula a také narušená mitochondriální dynamika a biogeneze (Valerio et al., 2006).

3.3.1 Zvýšená tvorba reaktivních forem kyslíku

Faktorem hrajícím významnou roli ve vzniku inzulinové rezistence je oxidativní stres. Jak již bylo zmíněno, mitochondrie jsou známy jako hlavní zdroj ROS v organismu (Teshima et al., 2014). V nízkých koncentracích jsou ROS, respektive peroxid vodíku (H_2O_2), esenciální pro funkci adipocytů. H_2O_2 plní funkci signální molekuly, je nutný i pro přenos signálu z inzulinového receptoru (Loh et al., 2009). H_2O_2 tvořený mitochondriemi je také potřebný k indukci PPAR γ během diferenciaci mesenchymální kmenové buňky v adipocyt v podmínkách *in vitro* (Tormos et al., 2011). Nicméně zvýšené koncentrace ROS dosažené v pokusu inhibicí elektronového transportního řetězce vedly ke snížení proliferace a diferenciaci 3T3-L1 buněk, 3T3-F442A preadipocytů a lidských stromálních vaskulárních buněk. Nedošlo však k indukci buněčné smrti, ale byl podpořen hypertrofický růst buněk (Carrière et al., 2003; Carrière et al., 2004). Zvýšený příjem energie, zejména ve formě nasycených mastných kyselin a sacharidů, spojený s nízkým energetickým výdejem vede ke zvýšenému přísunu substrátů do respiračního řetězce, k tzv. „elektronovému přetížení“, což má za následek zvýšenou produkci ROS. Vystupňovaný oxidační stres vede k poškození

proteinů, DNA a snížené mitochondriální biogenezi, která je podkladem mitochondriální dysfunkce (Choksi et al., 2004). Ve studii na hlodavcích dochází u myši na vysokotukové dietě ke zvýšení produkce ROS v epididymální tukové tkáni. Zvýšení oxidačního stresu předchází vznik samotné mitochondriální dysfunkce (Wang et al., 2014). Několik dalších studií jasně ukázalo, že oxidační stres je spojen s koncentrací ROS a mírou oxidativního poškození WAT u obézních hlodavců i lidských jedinců (Galinier et al., 2006; Frohnert et al., 2011). ROS také poškozují citlivé tkáně, zejména ty s vysokým energetickým obrátem, mezi které patří i pankreas a pankreatické β -buňky, místo tvorby inzulínu. Mitochondriální dysfunkce je pak zdrojem zvýšené produkce ROS, čímž se formuje bludný kruh (Kim et al., 2008). ROS mají i klíčový význam pro rozvoj komplikací diabetes mellitus.

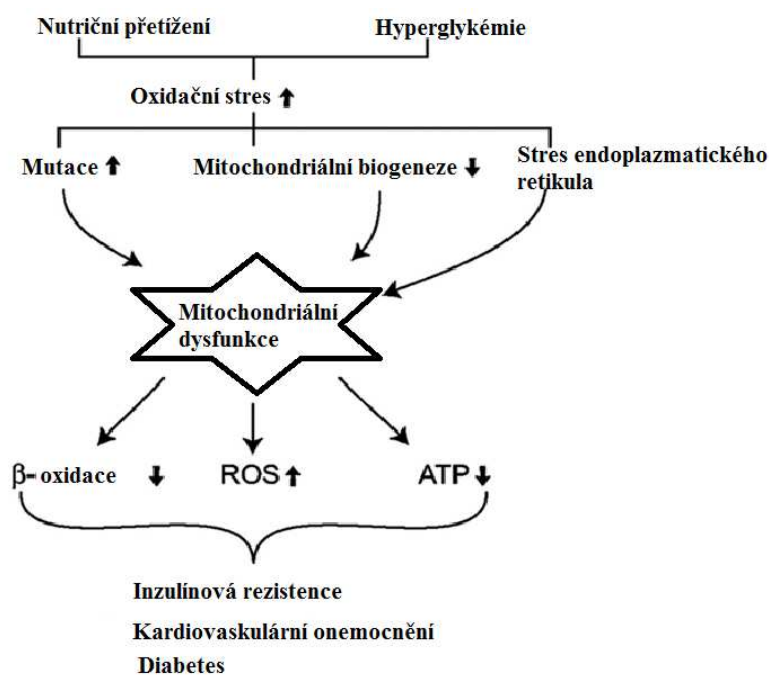
3.3.2 Stres endoplazmatického retikula

Souvislost mitochondriální dysfunkce a rozvoje inzulínové rezistence se zdá dle dostupných dat velice pravděpodobná. Dalším z faktorů, které mohou k těmto patologickým procesům přispívat je stav označovaný jako stres endoplazmatického retikula, přičemž se předpokládá souvislost mezi stresem ER a poruchou mitochondriální funkce. ER je ústřední buněčnou organelou, jeho funkce zasahují do syntézy lipidů, pufování kalciových iontů, balení (tvorba sekrečních granul) a maturace proteinů. Faktory, které zhoršují funkci ER (například zvýšení požadavků nebo snížení kapacity v ER) vedou k hromadění "nebalených" proteinů. Toto spouští signální kaskádu, která je nazývána jako odpověď nebalených proteinů (unfolded protein response), která je považována za stres ER (Rieusset, 2011; Lim et al., 2009). Stav narušení funkce endoplazmatického retikula vede k aktivaci adaptivních kompenzatorních mechanismů, mj. i inhibice translace proteinů, zvýšení degradačních procesů s buněčným poškozením. Akumulace nebalených proteinů také zvyšuje produkci ROS. Funkce celé buňky včetně mitochondrií je tak narušena. Při narušené funkci ER mohou být kalciové signální dráhy podporující tvorbu ATP v mitochondriích porušeny a vedou pak k vystupňované apoptóze. Stejně tak vede neadekvátní tvorba ATP v mitochondriích k poruše funkce ER, což bylo ukázáno v případě zvýšených intracelulárních hladin volného Ca^{2+} při mitochondriální dysfunkci, které vyvolávají stresovou odpověď v endoplazmatickém retikulu (Lim et al., 2011). Adipocyty, které tvoří celou řadu proteinů, jsou k fenoménu stresu ER a související mitochondriální dysfunkci náchylné.

3.4 Mitochondriální biogeneze a diferenciace adipocytů

V průběhu diferenciace a zrání adipocytu dochází ke změnám v morfologii mitochondrií a v obsahu mtDNA (Kusminski, Scherer, 2012). V případě obezity s excesivním nárůstem ve WAT dochází k hypertrofii již zralých adipocytů. Hypertrofické adipocyty mají menší obsah mitochondrií a ztrácí funkční metabolický potenciál (Choo et al., 2006). Naproti tomu v průběhu diferenciace jsou nově rekrutované malé adipocyty vysoce metabolicky aktivní, mají zvýšenou inzulinovou senzitivitu a spotřebu substrátu. Bylo prokázáno, že v procesu diferenciace preadipocytů je mitochondriální biogeneze významně zvýšená, dochází ke zvýšení hladin mitochondriálních proteinů, celkově se zvyšuje počet mitochondrií v buňce, zvyšuje se i počet kopií mtDNA (Lu et al., 2010; Bogacka et al., 2005; Rosen, MacDougald, 2006; Kaaman et al., 2007). Studie s použitím inhibitorů mitochondriálního respiračního řetězce nebo s vyřazením genů pro proteiny zásadní v mitochondriální biogenezi ukázaly, že inhibice OXPHOS a respirace vede k těžké poruše diferenciace preadipocytů. Důsledkem je zvýšená akumulace zásobních forem lipidů v již zralých adipocytech (Shi et al., 2008; Wang et al., 2010). Obezita tedy vede ke snížení funkčního metabolického potenciálu adipocytů a současně mitochondriální dysfunkce potencuje ukládání a hypertrofii již zralých adipocytů, je porušen proces diferenciace preadipocytů, což společně přispívá ke stavu metabolické neflexibility pozorované u obézních jedinců.

Obrázek 5 Mechanismus vzniku mitochondriální dysfunkce. Zvýšený příjem živin a hyperglykémie vede k vystupňování oxidačního stresu a snížení mitochondriální biogeneze. Výsledkem je mitochondriální dysfunkce, která dále vede ke snížené tvorbě energie ve formě ATP s redukcí β oxidace mastných kyselin, progresivně se naopak zvyšuje tvorba volných kyslíkových radikálů. Vše pak přispívá k rozvoji inzulinové rezistence, vzniku DM 2. typu a kardiovaskulárních onemocnění. (upraveno dle Kim et al., 2008)

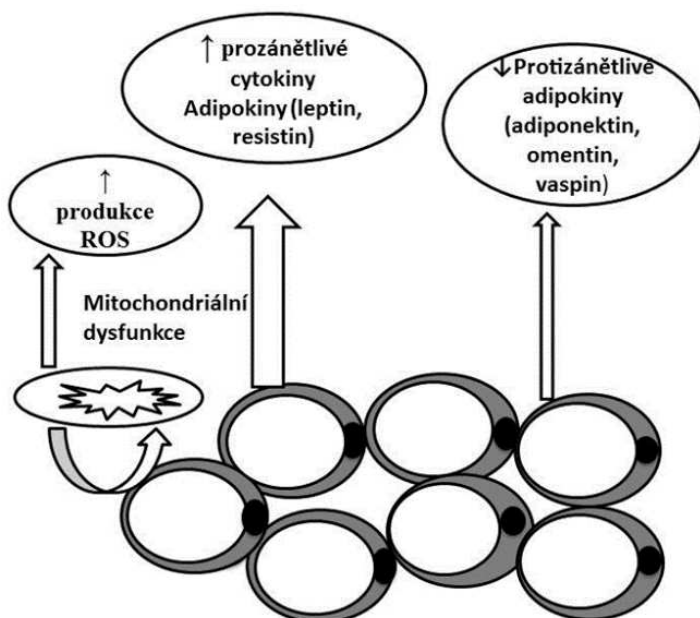


3.5 Mitochondriální dysfunkce v elementech periferní krve

Objevují se údaje, které naznačují, že mitochondriální dysfunkce a kvalitativní i kvantitativní změny v mtDNA se vyskytují u pacientů s diabetes mellitus 2. typu nejen v buňkách tukové tkáně, kosterního svalu a pankreatu, ale jsou přítomny i v krevních elementech, zejména v lymfocytech a monocytech periferní krve (Lee et al., 1998). Pacienti s DM 2. typu mají snížené množství mtDNA v periferních lymfocytech, snížení mtDNA dokonce předchází rozvoji diabetu samotného. Účast leukocytů periferní krve na rozvoji subklinického zánětu již byla diskutována. Zdá se proto, že spoluúčast mitochondriální dysfunkce v elementech periferní krve má souvislost s rozvojem diabetes mellitus 2. typu. Ve studii Wong a kol. koreloval časnější věk rozvoje DM 2. typu se snížením obsahu mtDNA v periferních monocytech, ale pouze u pacientů bez diabetických komplikací (Wong et al., 2009). Autoři hypotetizují, že deplece mtDNA v monocytech periferní krve by mohla indikovat celkové snížení mtDNA v orgánech důležitých pro inzulínovou senzitivitu a glukózovou toleranci. Dále je také možná souvislost mezi snížením mtDNA a aktivací subklinického zánětu v rozvoji DM 2. typu. Tato hypotéza je podporována i Widlanským a kol., kteří ve své práci poukázali na změny mitochondriálního membránového potenciálu, denzity a morfologie mitochondrií v periferních monocytech u jedinců s DM 2. typu (Widlansky et al., 2010). Polarizace a morfologické změny mitochondriální membrány přitom hrají důležitou roli v aktivaci prozánětlivých buněk. Khan a kol. dále ukázali, že obsah mtDNA negativně koreluje s parametry glukózového metabolismu, respektive s HbA1c (Khan et al., 2011).

Monocyty periferní krve se tak zdají zajímavým faktorem spojujícím několik patofyziologických mechanismů rozvoje DM 2. typu. Zároveň jsou dobře dostupným materiálem pro výzkum mitochondriální dysfunkce, je podtrhována jejich možná funkce jako biomarkerů mitochondriální dysfunkce v organizmu.

Obrázek 6 *Propojení mitochondriální dysfunkce s rozvojem subklinického zánětu v tukové tkáni. Mitochondriální dysfunkce a vystupňovaný oxidační stres přispívá ke zvýšené sekreci prozánětlivých adipokinů adipocyty bílé tukové tkáně. Zároveň se snižuje tvorba protizánětlivě a pozitivně metabolicky působících hormonů tukové tkáně.*



4 STŘEVNÍ MIKROBIOM V PATOGENEZI OBEZITY A DIABETES MELLITUS 2. TYPU

V posledních několika letech je často diskutována souvislost osídlení organismu mikroorganismy (především složení střevního mikrobiomu) s obezitou a rozvojem subklinického zánětu. Jako první na tuto problematiku poukázal Bäckhed et al. Ve své práci porovnávali rozvoj metabolických komplikací u myši krmených vysokotukovou dietou. Běžná myš na vysokotukové dietě přibírala na hmotnosti odpovídajícím způsobem, ale myš, která nebyla osídlená mikroorganismy, zůstala štíhlá (Bäckhed et al., 2004). Po transplantaci mikrobiomu z obézní myši na štíhlou došlo u této k rozvoji obezity. Stejná skupina následně poukázala na rozdílné složení střevní mikroflóry myši s geneticky podmíněnou obezitou (*ob/ob* myš) a štíhlé myši (Ley et al., 2005). Byla formulována hypotéza efektivnějšího

zpracování živin a získávání energie z nestravitelných zbytků (dietní vláknina, složité škroby) při osídlení zažívacího ústrojí mikroorganismy (Bäckhed et al., 2007; Turnbaugh et al., 2006). Dalším z možných vysvětlení je hypotéza mikrobiálních metabolitů, které zasahují do pochodů regulujících příjem a zpracování energie v hostitelském organismu (Bäckhed et al., 2007). Lipopolysacharidy (LPS) jsou základní složkou stěny gram-negativních bakterií. Zvýšené hladiny LPS v lidské plazmě, tzv. metabolická endotoxémie, je spojena s rozvojem obezity a inzulínové rezistence (Cani et al., 2007). Existuje souvislost se zvýšenými cirkulujícími hladinami LPS a dietními zvyklostmi, zejména stravou bohatou na tuky (Amar et al., 2008). Komponenty bakterií mohou také působit jako aktivátory Toll-like receptorů (TLR), zejména TLR2 a TLR4, které jsou považovány za významné faktory kontroly metabolických funkcí, jakými je lipolýza (Zu et al., 2009), proliferace buněk (Cani et al., 2007), regulace imunitních buněk (Suganami et al., 2007; Shi et al., 2006) a citlivost k inzulínu (Song et al., 2006; Poggi et al., 2007). U obézních pacientů byla prokázána změna ve složení střevních bakterií oproti štíhlým jedincům. Obézní měli rozdílný poměr zastoupení jednotlivých bakteriálních kmenů ve střevní flóře. Byla pozorována převaha Firmicutes nad Bacteroidetes. Bacteroidetes jsou za normálních okolností majoritním kmenem u zdravých jedinců (Ley et al., 2006). Vlivem redukce tělesné hmotnosti při omezení kalorického příjmu u obézních dochází ke snížení zastoupení Firmicutes a ke zvýšení Bacteroidetes. Změny v zastoupení ostatních skupin střevních bakterií (Actinobacteria, Proteobacteria, Archaea) jsou spíše nekonzistentní (Ley et al., 2006; Duncan et al., 2007; Walker et al., 2011; Russell et al., 2011). Je však třeba dalších studií k jasnějšímu určení významu nerovnováhy střevní mikrobioty v rozvoji obezity a diabetes mellitus. Otazné je také možné terapeutické ovlivnění složení střevní mikroflóry v souvislosti s léčbou metabolických onemocnění.

5 OVLIVNĚNÍ FUNKCE TUKOVÉ TKÁNĚ

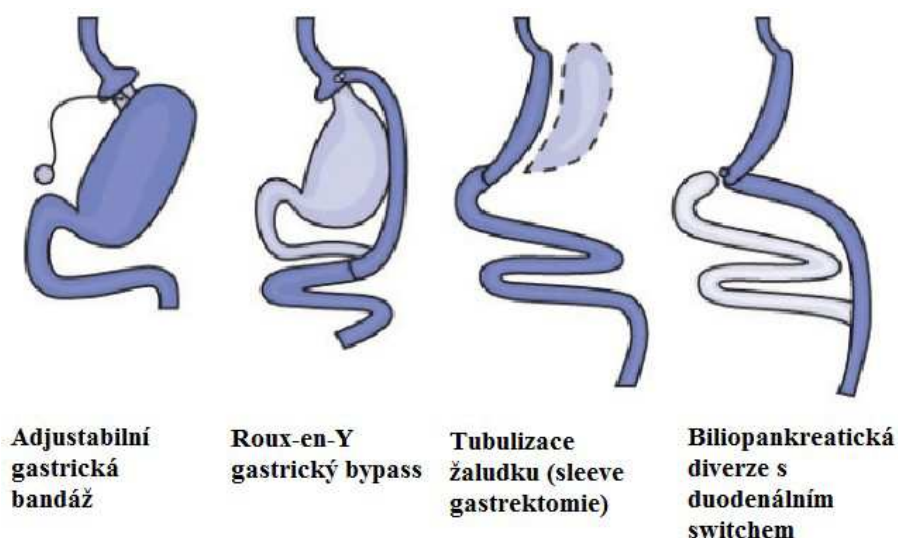
V souvislosti s narůstající potřebou efektivní léčby obezity a jejích komplikací se zaměřuje pozornost na terapii ovlivňující funkci, nebo přesněji dysfunkci tukové tkáně. Základní přístupy jsou nefarmakologické a farmakologické.

5.1 Nefarmakologické intervence

Základem léčby metabolických onemocnění jsou režimová opatření, tj. změna skladby potravy, omezení energetického denního příjmu a zvýšená fyzická aktivita vedoucí k redukci hmotnosti. Redukce tělesné hmotnosti vede u pacientů s obezitou a DM 2. typu k signifikantnímu zlepšení metabolického profilu. Bylo prokázáno, že snížení hmotnosti již o

5-10% přispívá ke snížení hladiny triglyceridů a ke zvýšení hladiny HDL-cholesterolu (Van Gaal et al., 1997), vede ke snížení hodnot krevního tlaku u jedinců s arteriální hypertenzí (Whelton et al., 1998) a k poklesu hladiny glykémie a hodnot glykovaného hemoglobinu u pacientů s diabetes mellitus (Wing et al., 1987). Redukcí tělesné hmotnosti dochází i k pozitivním změnám v tukové tkáni. Vlivem 12 týdnů redukční diety a zvýšené fyzické aktivity došlo k poklesu hladin TNF- α , IL-6 a leptinu, přičemž hladiny protizánětlivých adipocytokinů – adiponektinu a IL-10, se zvýšily (Jung et al., 2008). Zvláště výhodné je kombinovat redukci hmotnosti s fyzickou aktivitou. Pravidelná fyzická aktivita snižuje inzulinovou rezistenci a obsah lipidů v kosterním svalu nezávisle na hodnotě BMI (Goodpaster et al., 2001). Pravidelná aerobní fyzická aktivita také přispívá k potlačení subklinického zánětu tukové tkáně (Trachta et al., 2014). Dietní intervence sice vede k poklesu tělesné hmotnosti, ale její další udržení je stále problematické. Nový přístup v léčbě obezity a také diabetes mellitus 2. typu nabízí bariatrická chirurgie. Operačním zákrokem na žaludku samotném (např. tubulizace žaludku – sleeve gastrectomy, žaludeční plikace nebo adjustabilní žaludeční bandáž) nebo výkonem kombinovaným, tedy redukce žaludečního objemu spolu s vynecháním části tenkého střeva ze vstřebávání potravy (gastrický bypass, sleeve-bypass), je dosaženo redukce až 30% tělesné hmotnosti v závislosti na typu výkonu (Compher a Badellino, 2008; Franco et al., 2011). U pacientů s DM 2. typu dochází k významnému zlepšení kompenzace diabetu až k jeho vymizení bez nutnosti další antidiabetické terapie (Schauer et al., 2003; Sugerman et al., 2003). U pacientů, kteří podstoupili bariatrický výkon dochází ke změnám hladin adipokinů, které pravděpodobně nesouvisí pouze s redukcí tělesné hmotnosti (Gotkas et al., 2013). Hladiny inzulin-senzitizující adipokinů, jako je vaspin a visfatin byly u obézních pacientů po gastrickém bypassu zvýšeny (Botella-Carretero et al., 2008; Chang et al., 2010; Handisurya et al.), vliv na hladiny resistinu je spíše inkonzistentní (Marantos et al., 2011). Redukce hmotnosti po bariatrickém výkonu pravděpodobně vede i ke změnám v metabolismu na buněčné úrovni. Recentní práce ukázaly, že po gastrickém bypassu došlo ke zvýšení exprese proteinů spjatých s mitochondriálním respiračním řetězcem v podkožní tukové tkáni (Jahansouza et al., 2015) i v kosterním svalstvu. Pozitivní změny v respirační aktivitě mitochondrií ve svaích byly výraznější, pokud byl bariatrický výkon následován pravidelným aerobním cvičením (Coen et al., 2015). Bariatrická chirurgie nabízí velice efektivní řešení obezity a jejích metabolických komplikací, přesný mechanismus změn, které přispívají k pozitivnímu metabolickému působení, však ještě není zcela objasněn.

Obrázek 7 Typy bariatrických výkonů. Upraveno dle Mandal, 2014, www.news-medical.net



5.2 Farmakologické intervence

Farmakologickému ovlivnění funkce tukové tkáně je věnován intenzivní výzkum. Stále však nejsou jasné výsledky. V pokusu na hlodavcích vedlo snížení počtu makrofágů v tukové tkáni genetickými modifikacemi a farmakologickými intervencemi ke zlepšení metabolického profilu myši (Liu et al., 2009). Studie u lidí nejsou takto jednoznačné a snaha o farmakologické ovlivnění funkce tukové tkáně zatím nenese jasné výsledky. Některé práce poukazují na protizánětlivé působení agonisty jaderných PPAR γ receptorů pioglitazonu. PPAR γ fungují jako transkripční faktory, které regulují velikost a množství adipocytů (Rosen et al., 2000), modulují sekreci některých adipokinů (Rangwala, Lazar, 2004) a také zasahují do imunitních pochodů v organismu (Daynes, Jones, 2002). Pioglitazon je lékem ze skupiny thiazolidindionů (glitazonů), agonistů PPAR γ , používaných k léčbě pacientů s diabetes mellitus 2. typu. Glitazony zlepšují citlivost k inzulinu v periferních tkáních a jak bylo prokázáno, mají také celou řadu protizánětlivých účinků, vedoucích ke snížení sérových hladin prozánětlivých ukazatelů a také ke snížení počtu makrofágů infiltrujících tukovou tkáň (DiGiorgio et al., 2005; Bodles et al., 2006; Staels, Fruchart, 2005). Glitazony také ovlivňují sekreci adiponektinu adipocyty (Combs et al., 2002). Zvýšení hladin adiponektinu bylo také pozorováno při užívání rybího oleje obsahujícího ω -3 polynenasycené mastné kyseliny (ω -3 PUFA), a to pravděpodobně mechanismem závislým na PPAR γ (Neschen et al., 2006; Banga et al., 2009). ω -3 PUFA vykazují i protizánětlivé působení a jak bylo recentně prokázáno,

snižují sérové koncentrace MCP-1 a množství makrofágů v tukové tkáni (Fritsche et al., 2006; Spencer et al., 2013). Užívání glitazonů (respektive nyní jediného dostupného pioglitazonu) je limitováno nežádoucími účinky, jakými je retence tekutin, zvýšený výskyt fraktur u postmenopauzálních žen a také kontraindikací užívání pioglitazonu při srdečním selhávání. Pokus o farmakologické využití adipokinů nebyl doposud významněji úspěšný. Pouze leptin je používán k léčbě geneticky podmíněné obezity při mutacích genu kódujícího leptin (Farooqi et al., 1999). Dále je také leptin užíván k léčbě inzulínové rezistence a jaterní steatózy u pacientů s vrozenou těžkou formou lipodystrofie, která se vyznačuje velmi nízkými hladinami sérového leptinu (Oral et al., 2002; Petersen et al., 2002). Vzhledem k leptinové rezistenci doprovázející obezitu a diabetes mellitus 2. typu je leptin neúčinný v léčbě pacientů s prostou obezitou. V pokusu na hlodavcích vedlo ovlivnění sekrece TNF- α ke zlepšení inzulínové rezistence (Hotamisligil et al., 1993). Snaha o primární ovlivnění subklinického zánětu bloádou TNF- α v léčbě inzulínové rezistence vykazuje nadějně výsledky (Gonzalez-Gay et al., 2006; Serio et al., 2008). Jsou však nutné další výzkumné práce, které by ukázaly, zda je vzhledem k možným vážným nežádoucím účinkům bloáda TNF- α vhodným terapeutickým přístupem k ovlivnění inzulínové rezistence a DM 2. typu. Efekt bloády dalšího významného prozánětlivého cytokinu, IL-6, v terapii inzulínové rezistence je nejasná. U pacientů s revmatoidní artritidou je s efektem k léčbě používána bloáda IL-6 pomocí humanizované monoklonální protilátky proti receptoru pro IL-6 (tocilizumab). Studie u pacientů léčených tocilizumabem ukázaly kontroverzní výsledky v otázce ovlivnění inzulínové senzitivity. Citlivost k inzulínu byla v jedné studii zvýšená, druhá neprokázala žádný efekt bloády IL-6 na inzulínovou senzitivitu (Schultz et al., 2010; Ogata et al., 2011).

6 HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

Hypotéza:

V naší práci jsme se zaměřili na vliv nefarmakologických intervencí – nízkokalorické redukční diety, pohybové aktivity a bariatrické chirurgie na ovlivnění endokrinní a metabolické funkce tukové tkáně a rovněž mitochondriální dysfunkce v této tkáni.

V první části práce jsme ověřovali hypotézu, že sérové koncentrace nového adipokinu omentinu budou sníženy u pacientů s obezitou a diabetem 2. typu a že toto snížení bude potlačeno všemi třemi intervencemi vedoucími k poklesu hmotnosti – nízkokalorickou dietou, pravidelnou fyzickou aktivitou a bariatrickou operací – sleeve gastrectomy. Zároveň jsme předpokládali, že zvýšení hladin omentinu bude korelovat se snížením hmotnosti a zlepšením metabolického stavu.

Ve druhé části práce jsme ověřovali hypotézu, že obezita vede k mitochondriální dysfunkci tukové tkáně a že zlepšení metabolického stavu pomocí nízkokalorické diety povede k potlačení mitochondriální dysfunkce, které bude korelovat se zlepšením metabolických parametrů.

Specifické cíle práce:

1. Zhodnotit změny v endokrinní aktivitě tukové tkáně po bariatrickém výkonu se specifickým zaměřením na změny sérových koncentrací a mRNA exprese jednoho z novějších adipokinů, omentinu, v tukové tkáni s ohledem na dříve popsany potenciální regulační vliv tohoto působku na inzulínovou senzitivitu. Zároveň bylo cílem sledovat změny koncentrace omentinu a jeho mRNA exprese po tradičních nefarmakologických intervencích (nízkokalorické dietě, pravidelné pohybové aktivitě).
2. Zhodnotit možnou úlohu změn mitochondriální dysfunkce v tukové tkáni u obézních a diabetiků 2. typu. Role mitochondriální dysfunkce byla hodnocena na podkladě aktivity a genové exprese vybraných enzymatických komplexů procesu oxidativní fosforylace před a po vystavení pacientů nízkokalorické dietě.

7 METODIKA STUDIÍ

Všechna klinická i laboratorní vyšetření byla prováděna na III. interní klinice 1. LF UK a VFN ve spolupráci s Ústavem klinické a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN, Ústavem dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN a Chirurgickou klinikou 2. LF UK a ÚVN.

Antropometrická, biochemická a hormonální vyšetření

U všech subjektů bylo provedeno antropometrické vyšetření. Byla změřena tělesná výška, hmotnost a byl vypočítán index tělesné hmotnosti (BMI, hmotnost v kg/výška v m²). U vybrané skupiny pacientů byl měřen obvod pasu. Krevní vzorky pro biochemické a hormonální vyšetření byly odebírány ze žilní krve mezi 07.00h a 08.00h po nejméně 12h lačnění. Krevní vzorky byly zpracovány centrifugací 10 min při 1000 x g. Získané sérum bylo rozděleno do podílů a uskladněno při teplotě -80°C do dalšího zpracování. Základní biochemické parametry byly stanovovány standardními laboratorními metodami na Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Hodnota LDL-cholesterolu byla vypočtena dle Friedewaldovy rovnice ($\text{LDL-cholesterol} = \text{celkový cholesterol} - \text{sérová koncentrace triacylglycerolů}/2.2$).

Sérové hladiny inzulinu byly stanoveny RIA soupravou (Cis Bio International, Gif-sur-Yvette, France). Citlivost stanovení byla 2.0 µIU/ml. Cirkulující hladiny adiponektinu byly měřeny komerčními RIA kity (Linco Research, St. Charles, MO). Citlivost stanovení byla 1.0 ng/ml. Koncentrace CRP (jako hs CRP, high sensitivity CRP) byly stanoveny ELISA soupravou (Bender MedSystems, Vienna, Austria). Citlivost stanovení byla 3 pg/ml. Sérové hladiny omentinu, leptinu a resistinu byly stanoveny komerčními ELISA kity (BioVendor, Brno, Czech Republic). Citlivost stanovení pro omentin byla 0.5 ng/ml, pro leptin 0.12 ng/ml a pro resistin 0.2 ng/ml. Intra assay variabilita měření byla pro všechny testy menší než 5% a interassay variabilita byla menší než 12%.

HOMA index (Homeostasis Model Assessment) byl vypočítán jako HOMA-IR dle vzorce: $\text{sérová koncentrace inzulinu nalačno (mIU/l)} \times \text{glykémie nalačno (mmol/l)} / 22.5$. Hodnoty glykovaného hemoglobinu byly stanoveny vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (high performance liquid chromatography, HPLC) na Variant II BioRad analyzáru (BioRad).

Biopsie tukové tkáně

Biopsie podkožní tukové tkáně byla u pacientů prováděna také po 12h lačnění spolu s krevními odběry. Biopsie byla odebírána z podkoží oblasti břicha v místě cca. 10-15cm laterálně od pupku. Místo odběru bylo dezinfikováno, následně bylo provedeno lokální znecitlivění 20ml 1% trimecainu (Mesocain 1% inj. sol.). Po znecitlivění byl v místě odběru proveden krátký řez (asi 3-4mm) skalpelem, následně byla do rány zavedena plastová kanyla s kovovým zavaděčem (Braunüle MT, 12G, délka 80mm, vnitřní/vnější průměr 2.2/2.7 mm, Braun Melsungen, Německo). Podkožní tuková tkáň byla mírně rozrušena, následně byl odstraněn kovový zavaděč a na kanylu byla napojena stříkačka o objemu 20ml. Kanylou bylo aplikováno cca. 10ml fyziologického roztoku a poté byla pomocí podtlaku odebrána tuková tkáň (cca. 100 – 1000mg). Odebrané vzorky tukové tkáně byly rozděleny do podílů o hmotnosti cca. 250 mg a uloženy do 1ml RNA stabilizačního reagentu (RNAlater, Qiagen, Hilden, Německo). Vzorky byly uchovány v -80°C do dalšího zpracování.

Stanovení mRNA exprese pomocí kvantitativní real-time PCR (qRT-PCR)

Vzorky podkožní tukové tkáně byly homogenizovány s použitím kuliček MagNA Lyser Green Beads na automatickém homogenizátoru MagNA Lyser (Roche Diagnostics GmbH, Německo). Celková RNA z homogenizované tkáně byla izolována na přístroji MagNA Pure instrument pomocí kitu MagNA Pure Compact Isolation kit (Roche Diagnostics GmbH, Německo). Koncentrace RNA byla stanovena spektrofotometricky měřením absorbance při 260 nm na NanoPhotometr (Implen, Mnichov, Německo). Reverzní transkripce byla provedena s využitím 0,25 µg celkové RNA. K syntéze cDNA byly užity náhodné primery. Systéza cDNA byla provedena postupem doporučeným výrobcem kitu, a to High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Genová exprese omentinu-1 byla stanovena na přístroji 7500 Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Pro reakci byla použita směs TaqMan® Universal PCR Master Mix II, NO AmpErase® UNG (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), roztok Nuclease-free water (Fermentas Life Science, Lithuania) a specifická TaqManGene expression Assay (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Kontroly bez templátu cDNA byly provedeny s každou zkouškou. Všechny vzorky byly měřeny minimálně dvakrát. Vzestup ve fluorescenci byl měřen v reálném čase jako prahová hodnota (Ct, cycle threshold). Ke kompenzaci odchylek v objemu RNA a účinnosti reakce PCR byl použit β -2-

mikroglobulin jako endogenní kontrola. K výpočtu relativní genové exprese sledovaných genů byl použit vzorec $2^{-\Delta\Delta(\text{CT cytokinu} - \text{CT endogenní kontroly})}$.

Separace periferních monocytů a izolace RNA z monocytů

Monocyty byly získány ze vzorků žilní krve odebraných do zkumavek s Na-EDTA pomocí Ficoll-PaqueTM Plus (Amersham Biosciences AB, Švédsko). 3.5 ml Ficoll-PaqueTM Plus bylo napipetováno do 50 ml zkumavky a poté bylo pomalu přidáno 5 ml krve. Po této přípravě byl obsah zkumavky centrifugován, agregáty leukocytů byly přemístěny do zkumavky s obsahem 10 ml PBS (0.001 PBS, pH 7.4) a znovu centrifugovány. Supernatant byl odstraněn a buněčná peleta byla rozpuštěna v DE-GAS roztoku (0.01 M PBS pH 7.4 s 0.5 M EDTA, pH 8 a 1% BSA). Monocyty byly izolovány z buněčné pelety magnetickou metodou (MiniMacs Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Německo) pomocí mikrokuliček značených monocytovým antigenem CD14⁺ (MACS CD14 MicroBeads, Miltenyi Biotec). Celková RNA byla ze vzorků CD14⁺ monocytů extrahována na přístroji MagNA Pure instrument pomocí izolačního kitu MagNA Pure Compact RNA Isolation kit (Roche Diagnostics GmbH, Německo).

Stanovení aktivity mitochondriálních enzymů

Stanovení aktivity mitochondriálních enzymů bylo provedeno laboratoři Ústavu dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN. Z 9 ml vzorku periferní krve odebrané do zkumavky s citrátem byly izolovány nejprve krevní destičky. Byla provedena diferenciální centrifugace vzorku bez přidání prostacyklinu dle Foxe a kol. (Fox et al., 1992). Destičkový protein byl stanoven metodou dle Lowry a kol. (Lowry et al., 1951). Aktivita komplexů respiračního řetězce NADH-koenzym Q₁₀ reduktázy (NQR, komplex I), sukcinát-koenzym Q₁₀ oxidoreduktázy (SQR, komplex II), cytochrom-c oxidázy (COX, komplex IV), NADH-cytochrom-c reduktázy (NCCR, komplex I+III) a aktivita citrát syntázy (CS) jako kontrolního enzymu byla stanovena spektrofotometricky (Bohm et al., 2003; Srere, 1969). Všechna spektrofotometrická měření byla provedena v 1 ml kyvetách při teplotě 37°C pomocí dvoupaprskového spektrofotometru Shimadzu UV-160. 100 µg proteinu izolovaného z krevních destiček bylo využito v každém enzymatickém stanovení, přičemž každá hodnota je průměrem 2 měření 1 vzorku destičkového proteinu. K eliminaci možných rozdílů mezi počtem mitochondrií v buňkách pacientů byl vypočten poměr mezi aktivitou jednotlivých komplexů respiračního řetězce a aktivitou citrát syntázy (Gellerich et al., 2002). Lymfocyty byly izolovány z periferní krve odebrané do zkumavek s EDTA výše uvedeným způsobem. Vzorky izolovaných lymfocytů byly po získání rychle zmrazeny a uchovávány k dalšímu

použití při -80°C. Aktivita pyruvát dehydrogenázového komplexu byla určena dle produkce $^{14}\text{CO}_2$ při dekarboxylaci [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-pyruvátu (Constantin-Teodosiu et al., 1991). Tabulka 1 uvádí stanovované enzymy procesu oxidativní fosforylace a jejich kódující geny.

Tabulka 1 *Enzymy procesu oxidativní fosforylace a jejich korespondující geny. Je také uvedena kódující DNA. nDNA – nukleární DNA, mtDNA – mitochondriální DNA*

Enzymatický komplex	Zkratka	mRNA exprese	Zkratka	DNA umístění
Pyruvát dehydrogenázový komplex	PDH	Dihydrolipoát-S-acetyltransferáza	<i>DLAT</i>	nDNA
Citrát syntáza	CS	Citrát syntáza	<i>CS</i>	nDNA
NADH–koenzymQ₁₀ reduktáza (komplex I)	NQR	NADH–ubichinon dehydrogenáza 1 alfa podkomplex 12	<i>NDUFA 12</i>	nDNA
		Mitochondriálně kódovaná NADH dehydrogenáza 5	<i>MT-ND5</i>	mtDNA
Sukcinát–koenzymQ₁₀ reduktáza (komplex II)	SQR	Sukcinát dehydrogenáza podjednotka A	<i>SDHA</i>	nDNA
NADH–cytochrome c reduktáza (komplex I-III)	NCCR	Cytochrom c 1	<i>CYC 1</i>	nDNA
Cytochrom c oxidáza (komplex IV)	COX	Cytochrom c oxidáza podjednotka IV izoforma 1	<i>COX 4/1</i>	nDNA
		ATP syntáza	<i>ATP 50</i>	mtDNA

Nízkokalorická dieta

Pacienti s obezitou a diabetes mellitus 2. typu podstoupili 2- až 3týdenní redukční pobyt za hospitalizace na III. interní klinice 1. LF UK a VFN. Během hospitalizace dostávali pacienti definovanou nízkokalorickou stravu s obsahem energie 600 kcal/den (2500 kJ).

Fyzická aktivita

Část obézních pacientů bez přítomnosti diabetes mellitus 2. typu byla zařazena do 3měsíčního programu fyzické aktivity. Pacienti docházeli k aerobnímu cvičení pod dozorem zkušeného trenéra do Rekondičního centra Praha. Cvičení probíhalo třikrát týdně po dobu 30 minut. Pacienti zařazení do programu fyzické aktivity nedodržovali speciální dietu, zachovali své původní jídelní návyky.

Statistická analýza dat

Statistická analýza byla provedena pomocí programu SigmaStat (Systat Inc., Chicago, IL, USA). Jednotlivé sledované parametry jsou vyjádřeny jako průměr \pm střední chyba průměru (standard error of the mean, SEM). Za statisticky významné byly považovány rozdíly, korelace a regresní analýzy s p menším než 0,05. K porovnání výsledků mezi jednotlivými skupinami byla použita jednocestná analýza rozptylu (One-way ANOVA), nepárový t -test nebo Mann-Whitney neparametrický test. K porovnání výsledků jednotlivých skupin po určených intervencích byl použit párový t -test, ANOVA on Ranks nebo Wilcoxonův test. Závislost mezi jednotlivými faktory byla hodnocena pomocí Spermanova korelačního testu a mnohočetné lineární regresní analýzy. Ke korekci falešně pozitivních hodnot při mnohočetném testování u analýzy genové exprese byla použita Benjamini-Hochbergova metoda (Benjamini, Hochberg, 1995).

8 VLASTNÍ VÝSLEDKY

8.1 Sérové koncentrace a mRNA exprese omentinu v podkožní tukové tkáni u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu: vliv nízkokalorické diety, fyzické aktivity a laparoskopické tubulizace žaludku

Cíl práce: Omentin je nový adipocytární hormon exprimovaný převážně ve viscerální tukové tkáni, který vykazuje příznivé účinky na inzulinovou senzitivitu a jehož hladiny negativně korelují se složkami metabolického syndromu. V naší práci jsme hodnotili sérové koncentrace omentinu a jeho mRNA expresi v podkožní tukové tkáni (SCAT) u obézních žen s a bez přítomnosti diabetes mellitus 2. typu za bazálních podmínek a po vybraných léčebných intervencích.

Metodika: Do studie bylo zařazeno 11 obézních žen s diabetes mellitus 2. typu (T2DM), 37 obézních žen bez diabetes mellitus (OB) a 26 zdravých štíhlých žen (KO). Sérové koncentrace omentinu a jeho mRNA exprese v podkožní tukové tkáni byly stanoveny vstupně a po vybraných intervencích – 2 týdny nízkokalorické diety (VLCD, energetický příjem 2500 kJ/den), 3 měsíce pravidelné fyzické aktivity (30 minut aerobního cvičení 3x týdně) a laparoskopická tubulizace žaludku (laparoscopic sleeve gastrectomy – LSG). Skupina pacientek, které podstoupily LSG byla vyšetřena celkem čtyřikrát – vstupně před operací a 6, 12 a 24 měsíců po chirurgickém zákroku.

Výsledky: Ve srovnání s KO skupinou byly bazální sérové hladiny omentinu signifikantně snižené jak u T2DM tak u OB pacientek ($474,9 \pm 44,6$ a $397,6 \pm 30,4$ vs. $565,5 \pm 27,7$ ng/ml; $p < 0,05$), zatímco jeho mRNA exprese v SCAT se mezi sledovanými skupinami významně nelišila. Fyzická aktivita ani VLCD neměly zásadní vliv na sérové koncentrace ani na genovou expresi omentinu u OB nebo T2DM skupiny. U OB skupiny vedla LSG v průběhu 2letého sledování k perzistentnímu vzestupu sérových koncentrací omentinu ($358,1 \pm 45,9$ vs. $455,7 \pm 34,8$ ng/ml; $p = 0,002$ po 1. roce a $449,7 \pm 44,8$ ng/ml; $p = 0,017$ po 2. roce), zatímco v SCAT došlo k poklesu jeho mRNA exprese. V kombinované populaci zahrnující všechny skupiny korelovaly sérové koncentrace omentinu negativně s BMI, hsCRP, inzulinem, LDL cholesterolem, triacylglyceroly a leptinem a pozitivně s HDL cholesterolem. mRNA exprese omentinu v SCAT nekorelovala se žádným ze sledovaných antropometrických nebo biochemických parametrů.

Závěr: Nižší sérové koncentrace omentinu mohou hrát úlohu při vzniku obezity a diabetes mellitus 2. typu. Jejich vzestup spolu se snížením exprese omentinu v SCAT se může podílet na zlepšení metabolického profilu a dlouhodobém hmotnostním úbytku navozeném bariatrickým výkonem.

Výsledky této práce byly publikovány v časopise Physiological Research, plný text článku v otištěné verzi je přiložen v příloze.

8.2 Vliv nízkokalorické diety na mitochondriální dysfunkci v podkožní tukové tkáni a v periferních monocytech u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu

Cíl práce: Mitochondriální dysfunkce je jedním z významných patofyziologických mechanismů, které přispívají k rozvoji inzulinové rezistence a diabetes mellitus 2. typu. V naší práci jsme hodnotili mRNA expresi vybraných genů pro mitochondriální enzymy a aktivitu mitochondriálních enzymatických komplexů v podkožní tukové tkáni (SCAT) a elementech periferní krve u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu. Dále byl zkoumán vliv dietní intervence na tyto parametry.

Metodika: Do studie bylo zařazeno celkem 45 subjektů rozdělených do 3 skupin. 11 subjektů s obezitou bez DM 2. typu (9 žen, 2 muži, skupina OB), 16 obézních pacientů s diabetes mellitus 2. typu (13 žen, 3 muži, T2DM skupina) a 17 zdravých, štíhlých kontrol (12 žen, 5 mužů, KO skupina). U všech skupin bylo vstupně provedeno antropometrické vyšetření, byly stanoveny hladiny biochemických parametrů a hormonů. Dále byla stanovena mRNA exprese vybraných genů pro mitochondriální enzymy metodou real time PCR ve vzorku podkožní tukové tkáně a v monocytech periferní krve. Aktivita mitochondriálních enzymatických komplexů byla měřena spektrofotometricky v krevních destičkách u T2DM skupiny. U T2DM bylo vyšetření zopakováno po třech týdnech nízkokalorické diety (VLCD, energetický příjem 600 kcal/den).

Výsledky: Za bazálních podmínek měly T2DM subjekty výrazně sníženou expresi genů všech sledovaných enzymů v podkožní tukové tkáni proti zdravým kontrolám. U OB byla proti KO skupině snižena exprese mRNA téměř všech sledovaných enzymů mimo podjednotky IV izoformy I cytochrom-c oxidázy (COX 4/1) a alfa 1 podkomplex 12 NADH dehydrogenázy (NDUFA 12). Skupina T2DM měla bazálně významně sníženou expresi všech sledovaných genů ve SCAT proti KO. Nebyly statisticky významné rozdíly mezi OB a T2DM za bazálních podmínek. V periferních monocytech byla za bazálních podmínek u OB i T2DM proti KO zjištěna snížená exprese genů pro mitochondriálně kódovanou NADH dehydrogenázu 5 (MTND 5) a NDUFA 12, u OB byla snížena exprese i citrát syntázy (CS). VLCD u T2DM pacientů vedla k signifikantnímu vzestupu exprese mRNA CS, MTND 5, dihydrolipoát-S-acetyltransferázy (DLAT) a podjednotky A sukcinát dehydrogenázy (SDHA) v SCAT. V periferních monocytech došlo po VLCD ke snížení exprese ATP-syntázy a COX4/1. Aktivita pyruvát dehydrogenázy (PDH) a cytochrom-c oxidázy (COX) byla vstupně výrazně snižena u T2DM proti KO. Po VLCD došlo k vzestupu aktivity COX (komplex IV

respiračního řetězce), také se významně snížila aktivita NADH-koenzym Q₁₀ reduktázy (NQR).

Závěr: Pacienti s obezitou i diabetici 2. typu mají sníženou expresi mRNA genů pro enzymy respiračního řetězce v podkožní tukové tkáni i periferních monocytech proti zdravým, štíhlým jedincům. Změny jsou výrazněji vyjádřené u pacientů s diabetem proti jedincům s prostou obezitou. Diabetici 2. typu vykazují také změněnou aktivitu jednotlivých enzymatických komplexů respiračního řetězce. Nízkokalorická dieta vedla k významnému zlepšení metabolického profilu nemocných, její vliv na mRNA expresi a aktivitu mitochondriálních enzymů byl nekonzistentní.

Výsledky této práce byly publikovány v časopise Physiological Research, plný text článku v Epub verzi je přiložen v příloze.

9 DISKUZE

Obezita a diabetes mellitus 2. typu patří v současnosti k velmi vážným onemocněním, které mají zásadní dopad na celkovou morbiditu a mortalitu populace. Nadále pokračuje rozsáhlé výzkumné úsilí s cílem lepšího a hlubšího pochopení patofyziologie těchto onemocnění. Ústředním hráčem v rozvoji metabolických komplikací obezity, zejména DM 2. typu, je bílá tuková tkáň, respektive její viscerální komponenta. Tuková tkáň je orgánem s rozsáhlou hormonální produkcí, jsou zde tvořeny působky s aktivitou autokrinní, parakrinní i endokrinní. Tuková tkáň je také zdrojem celé řady prozánětlivě působících cytokinů, což spolu s hormonální dysregulací působí rozvoj subklinického zánětu. Subklinický zánět ovlivňuje rozvoj inzulinové rezistence a souvisí i s kardiovaskulárními komplikacemi metabolických onemocnění. Ovlivnění produkce adipokinů se jeví jako potenciálně slibný cíl v léčbě obezity a jejích komplikací. I proto je hlubší poznání úlohy a mechanismu působení jednotlivých adipokinů, kterých je doposud popsáno více než 600 (Lehr et al., 2012), věnována značná pozornost.

V naší práci jsme se zaměřili na jeden z recentněji popsaných adipokinů omentin (intelektin-1), který vykazuje inzulin-senzitizující účinky na adipocyty v pokusech *in vitro* (Yang et al., 2006; Herder et al., 2015). Pozitivní působení omentinu na metabolismus je pravděpodobně komplexní v souhře s dalšími faktory - zvažována je například součinnost s dalším adipokinem adiponektinem (Herder et al., 2015). Vzhledem ke známému protizánětlivému působení adiponektinu, by omentin touto cestou mohl kladně působit také na subklinický zánět doprovázející obezitu a její metabolické komplikace. Bylo prokázáno, že lokálně v cévní stěně omentin snižuje zánět cestou inhibice TNF- α (Yamawaki et al., 2011). Omentin je adipokinem s vazorelaxačními účinky na cévní stěnu (Yamawaki et al., 2010), jeho zvýšené hladiny jsou považovány za protektivní faktor v rozvoji ICHS, snížení sérových koncentrací omentinu naopak koreluje s tíží kardiovaskulárního onemocnění (Dilip et al., 2015). V naší práci jsme prokázali, že sérové koncentrace omentinu jsou u obézních pacientů bez diabetu i diabetiků 2. typu významně sniženy proti zdravým, štíhlým jedincům. Tyto výsledky jsou ve shodě s doposud publikovanými pracemi (Auget et al., 2011; de Souza Batista et al., 2007; Yan et al., 2011; Jialal et al., 2013). Sérové koncentrace omentinu se v naší práci významně nelišily mezi jedinci s prostou obezitou a pacienty s diabetes mellitus 2. typu, nicméně tyto výsledky mohou být ovlivněny i relativně malým počtem pacientů v jednotlivých skupinách a také faktem, že skupina obézních nediabetiků nebyla zcela homogenní. Sérové koncentrace omentinu vykazovaly negativní korelaci s parametry typicky

zvýšenými u jedinců s metabolickým syndromem – s BMI, hladinou inzulinu, C-reaktivního proteinu (CRP), LDL-cholesterolu, triacylglycerolů a leptinu. Naopak byla prokázána pozitivní korelace s hladinou HDL-cholesterolu. I tyto výsledky jsou v souladu s doposud publikovanými pracemi (de Souza Batista et al., 2007). Sérové koncentrace omentinu tedy do jisté míry odrážejí narušení metabolických procesů doprovázející obezitu a diabetes mellitus 2. typu a omentin by tak mohl sloužit jako možný marker metabolického syndromu a endoteliální dysfunkce, jak již bylo naznačeno dalšími autory (Moreno-Navarette et al., 2010; Zhou et al., 2014). Příčina snížení sérových hladin omentinu u jedinců s metabolickými onemocněními stále není zcela jasná. Zdá se, že úlohu hraje hyperinzulinémie, která doprovází jak obezitu, tak diabetes mellitus 2. typu. Možnost účasti hyperinzulinémie na snížení systémových hladin omentinu podporují výsledky práce Al-Gareeb a kol., kteří pozorovali zvýšení hladin omentinu-1 u pacientů s diabetes mellitus 2. typu léčených metforminem, který mechanismem svého účinku snižuje inzulinovou rezistenci (Al-Gareeb et al., 2016). Naopak přidání inzulinového sekretagoga gliklazidu vedlo ke snížení hladin omentinu. Otazný je mechanismus ovlivnění hladin omentinu při terapii diabetu inkretinovými analogy, která svým působením ovlivňují postprandiální sekreci inzulinu. Ve studii Yan a kol. vedlo přidání liraglutidu, dlouhodobě působícího inkretinového analogu GLP-1 agonisty (glucagon like peptide-1), k signifikantnímu zvýšení sérových hladin omentinu. Vzestup koncentrace omentinu byl významnější při kombinované léčbě GLP-1 agonistou s metforminem než při léčbě metforminem samotným (Yan et al., 2011). Další z mechanismů vedoucí ke snížení hladin omentinu může být i aktivita subklinického zánětu, neboť hladiny omentinu jsou u pacientů s chronickým zánětlivým onemocněním, jakým je i Crohnova choroba, také snížené (Schäffler et al., 2005). V neposlední řadě mohou být systémové koncentrace omentinu ovlivněny i celkově zvýšeným obsahem tuku v organismu. Tato hypotéza je podporována faktem, že koncentrace omentinu jsou zvýšené u stavů s dlouhodobě významně sníženým objemem tukové tkáně, jako bylo pozorováno u pacientek s mentální anorexií (Guo et al., 2013). V naší práci se pomocí mnohočetné lineární regrese nepodařilo určit samostatný nezávislý prediktor bazálních sérových koncentrací omentinu. Nicméně hodnota BMI, koncentrace inzulinu a HOMA index jsou dle našich výsledků nezávislými prediktory změn sérové koncentrace omentinu po bariatrickém výkonu. mRNA exprese omentinu v podkožní tukové tkáni se mezi jednotlivými studovanými skupinami v naší studii významně nelišila. Toto zjištění je v souladu s výsledky Auget a kol. (Auget et al., 2011). Omentin je exprimován převážně ve viscerální tukové tkáni, jeho exprese v podkožní tukové tkáni je signifikantně nižší (Kralisch et al., 2005; Schäffler et al., 2005;

Yang et al., 2006). Dle literatury je genová exprese omentinu snížena ve viscerální tukové tkáni u morbidně obézních (Auger et al., 2011; de Souza Batista et al., 2007). Cai a kol. také prokázali, že exprese omentinu ve viscerální tukové tkáni dále klesá při zvyšující se tělesné hmotnosti a současně při přítomnosti DM 2. typu (Cai et al., 2009). Práce Jialal a kol. ukázala, že koncentrace omentinu produkovaného podkožní tukovou tkání je u jedinců s obezitou snížena (Jialal et al., 2013), v naší práci jsme hladiny secernovaného proteinu SCAT nestanovovali. Je ale akceptováno, že mRNA exprese přímo neodráží celkovou expresi a produkci daného proteinu, proto nemusí exprese a sérové koncentrace daného působku přímo korelovat. Nicméně je pravděpodobné, že VAT je hlavním producentem omentinu a produkce ve SCAT neovlivňuje systémové koncentrace tohoto adipokinu. Toto podporuje i fakt, že snížení genové exprese omentinu ve VAT korelovala se systémovými parametry metabolického syndromu (de Souza Batista et al., 2007).

V práci jsme také sledovali vliv několika nefarmakologických intervencí (nízkokalorické diety, pravidelné fyzické aktivity a laparoskopické sleeve gastrektomie – LSG) na sérové koncentrace a mRNA expresi omentinu. Již bylo prokázáno, že i krátkodobá kalorická restrikce vede ke zlepšení metabolického a prozánětlivého profilu pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu (Mráz et al., 2011; Touskova et al., 2012; Trachta et al., 2014; Kloučková et al., 2016). Moreno-Navarrete a kol. v roce 2010 popsali vzestup sérových koncentrací omentinu po 4 měsících hypokalorické diety (Moreno-Navarrete et al., 2010). V naší studii nevedly 2 týdny nízkokalorické diety s denním příjmem 600 kcal k signifikantním změnám sérových koncentrací nebo mRNA exprese omentinu v SCAT. Nedostatečný efekt kalorické restrikce je pravděpodobně způsoben krátkou dobou intervence, ačkoliv během jejího trvání došlo k významné hmotnostní redukci a zlepšení metabolického profilu pacientů. Obdobně v naší práci neměla ani pravidelná 3měsíční aerobní fyzická aktivita zásadní vliv na sérovou koncentraci omentinu nebo jeho expresi v SCAT. Výsledky jsou v rozporu se studií Saremi a kol., kteří pozorovali u pacientů s nadváhou a obezitou významný vzestup sérových koncentrací omentinu po 12týdenním aerobním cvičení (Saremi et al., 2010). V této studii podstoupily subjekty intenzivnější cvičení (50-60 min 5x týdně) proti naší studii (3x týdně 30 min), vyšší intenzita cvičení vedla u obézních pacientů k významnému zlepšení parametrů lipidového metabolismu. V naší studii jsme proti Saremi a kol. pozorovali výraznější změny v hodnotách BMI, hladinách inzulínu a HOMA indexu. Mezi naší prací a studií Saremi a kol. však byly významné rozdíly v základní charakteristice subjektů zařazených do jednotlivých studií (muži vs. ženy, průměrné bazální BMI 29.1 vs. 38.2 kg/m²), což může částečně vysvětlovat nejednotnost dosažených výsledků.

Nejzajímavější výsledky jsme v naší práci pozorovali u skupiny subjektů, která podstoupila bariatrický výkon. Po LSG došlo k výraznému vzestupu hladin omentinu v séru a zároveň se významně snížila mRNA exprese omentinu v SCAT. Změny byly signifikantní i v průběhu sledování a 24 měsíců po operačním zákroku. Bariatrická chirurgie vede k významnému hmotnostnímu úbytku, který je trvalejšího charakteru a je schopna proti prosté kalorické restrikci a fyzické aktivitě navodit i pozitivní změny v hormonálním profilu pacientů s metabolickými onemocněními. I naše výsledky svědčí pro fakt, že bariatrická chirurgie je mimořádně účinnou metodou nikoliv pouze v léčbě obezity, ale také metabolických onemocnění včetně diabetes mellitus 2. typu.

V druhé části naší práce jsme se zaměřili na mitochondriální dysfunkci tukové tkáně. Hodnotili jsme mRNA expresi a enzymatickou aktivitu komponent mitochondriálního respiračního řetězce v tukové tkáni a periferních monocytech u pacientů s obezitou a diabetes mellitus 2. typu. Poměrně dlouhou dobu byla úloha mitochondrií a jejich podíl na celkové funkci adipocytů opomíjen, částečně i pro menší početní zastoupení mitochondrií v adipocytech bílé tukové tkáně proti jiným buňkám (např. adipocyty hnědé tukové tkáně, buňky kosterního svalu). Je ale zřejmé, že správná funkce mitochondrií je nezbytná pro udržení metabolické rovnováhy v bílé tukové tkáni. Mitochondrie, jako ústřední součást intermediárního metabolismu, jsou zapojeny do procesů jako je syntéza a esterifikace mastných kyselin, katabolismus rozvětvených aminokyselin, lipolýza a adipogeneze. V posledních letech je stále častěji diskutována porucha mitochondriální funkce v souvislosti s dysfunkcí tukové tkáně u obezity a diabetu. Mitochondriální dysfunkce, celkový počet mitochondrií a jejich abnormální morfologie je spojována s rozvojem inzulinové rezistence a diabetes mellitus 2. typu (Heinonen et al., 2015; Kim et al., 2008; Mitchel, Darley-USmar, 2012). Tato zjištění jsou podpořena výsledky pokusů na zvířecích modelech i studií u pacientů s metabolickými onemocněními. S mitochondriální dysfunkcí úzce souvisí zvýšená koncentrace ROS a oxidační stres. K nárůstu produkce ROS v organismu přispívá dlouhodobě zvýšený příjem energeticky bohaté stravy, zvýšený příjem nutrientů vede k excesivní produkci elektronů, které zahlcují enzymatické komplexy respiračního řetězce. Přebytečné elektrony jsou přenášeny ke kyslíku, který je následně konvertován v superoxid a další formy ROS. ROS poté přispívají k akumulaci FFA, poškození inzulin-senzitivních tkání a případně i k rozvoji IR s následným sekundárním selháním β -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu (Meza-Miranda et al., 2014; Lowell a Shulman, 2005). Mitochondrie, zejména komplex I a komplex III mitochondriálního respiračního řetězce, jsou významnými producenty ROS v organismu (Kim et al., 2008). V naší práci jsme prokázali, že jedinci

s prostou obezitou mají významně sníženou expresi téměř všech sledovaných genů pro enzymové komplexy respiračního řetězce v podkožní tukové tkáni. Toto zjištění je ve shodě s již publikovanými výsledky (Chattopadhyay et al., 2011; Gianotti et al., 2008; Dahlman et al., 2006). U pacientů s diabetes mellitus 2. typu byly změny v expresi ještě výraznější, pozorovali jsme snížení exprese i pro NDUFA12 a COX4/1, které u jedinců s obezitou samotnou přítomno nebylo. U obou skupin bylo proti zdravým štíhlým jedincům přítomno také snížení 2 genů pro proteiny mimo respirační řetězec (CS a DLAT). Tento fakt naznačuje, že i části metabolismu glukózy předcházející samotné buněčné respiraci jsou pravděpodobně postiženy. Citrát syntáza, zejména její aktivita, je také považována za marker celkového počtu mitochondrií (Merz et al., 2015; Civitarese et al., 2007). Snížení exprese genu pro CS by tak mohlo naznačovat, že celkové snížení mRNA exprese enzymů respiračního řetězce je výrazem celkové redukce množství mitochondrií popisovaných u pacientů s metabolickými onemocněními. Naše data tedy dále podporují hypotézu asociace mitochondriální dysfunkce i v podkožní tukové tkáni s obezitou a DM 2. typu, jak již bylo poukázáno dalšími autory (Brands et al., 2012; Rieusset et al., 2015). Monocyty periferní krve (PM) jsou součástí komplexních dějů, které podporují subklinický zánět. Tato forma chronického zánětu je jeden z klíčových faktorů rozvoje dysfunkce tukové tkáně a s obezitou souvisejících metabolických onemocnění (Mráz et al., 2011; Harford et al., 2011). Doposud je jen omezený počet publikovaných prací, které se zabývají souvislostí mitochondriální dysfunkce v elementech periferní krve s rozvojem metabolických onemocnění. Již publikovaná data naznačují, že množství mtDNA je v periferních monocytech pacientů s DM 2. typu sniženo, což je dáváno do souvislosti jak s patogenezí onemocnění samotného, tak i s časnějším rozvojem onemocnění (Lee et al., 1998; Wong et al., 2009; Widlansky et al., 2010). V naší studii poprvé poukazujeme na fakt, že genová exprese některých enzymatických komplexů je již u pacientů s prostou obezitou v PM snižena. Jednalo se konkrétně o enzymy komplexu I respiračního řetězce (MTND5 a NDUFA12). U skupiny diabetiků byla navíc snižena i exprese genu pro CS, což by opět podporovalo hypotézu, že celkové množství mitochondrií v PM diabetiků 2. typu je nižší oproti štíhlým jedincům i pacientům s obezitou (Civitarese et al., 2007). Exprese ostatních sledovaných genů nebyla v PM v porovnání se SCAT výrazněji snížena u žádné ze sledovaných skupin subjektů. Je tedy možné, že monocyty periferní krve jsou proti adipocytům podkožní tukové tkáně méně náchylné k poruchám, které doprovázejí metabolická onemocnění. U zdravých štíhlých jedinců však byla popsána srovnatelná exprese genů mitochondriálních enzymatických komplexů ve viscerální tukové tkáni a v monocytech

periferní krve (Fabricius et al., 2010). Rozdíly v obou pozorováních mohou souviset se stanovením exprese v rozdílných tukových depech (podkožní vs. viscerální tuková tkáň).

Dále jsme stanovovali u obou studovaných skupin aktivitu komplexů mitochondriálního respiračního řetězce v elementech periferní krve, respektive v krevních destičkách. Srovnání Kramera a kol. ukázalo, že PM a krevní destičky mají obdobné metabolické nároky jako lymfocyty a neutrofilové a oba krevní elementy mohou sloužit jako senzory metabolického a zánětlivého stresu v organismu (Kramer et al., 2014). V naší studii byla snížena u obou skupin aktivita PDH, u pacientů s diabetes mellitus 2. typu byla k tomu snížena i aktivita komplexu IV. Překvapivě bylo naznačeno zvýšení aktivity komplexu I, které však nebylo statisticky signifikantní. Nicméně zvýšení aktivity komplexu I je zajímavé, může být odrazem zvýšeného přísunu substrátu pro respirační řetězec (tzv. electron overload), ale také může být kompenzatorním mechanismem při snížené aktivitě komplexu IV a PDH. Možná je i souvislost s vystupňovanou tvorbou ROS u metabolických onemocnění.

V naší práci jsme si dále položili otázku, jaký vliv bude mít kalorická restrikce na mRNA expresi sledovaných genů respiračního řetězce a na aktivitu komplexů respiračního řetězce. Tři týdny nízkokalorické diety měly na genovou expresi proteinů respiračního řetězce ve SCAT a v PM nekonzistentní efekt, nedošlo k významnému zlepšení u žádného ze studovaných genů. Naopak i přes významnou redukci hmotnosti obézních diabetiků a celkové zlepšení metabolického profilu pacientů došlo k dalšímu snížení mRNA exprese genů pro CS, DLAT a MTND5 ve SCAT, v PM to pak byli COX 4/1 a ATP 50. Naše zjištění jsou v rozporu s recentně publikovanými studiemi, které ukázaly, že dlouhodobá kalorická restrikce a výrazný hmotnostní úbytek po bariatrickém výkonu má pozitivní vliv na mitochondriální biogenezi (Jahansouz et al., 2015; Coen et al., 2015; Lopez-Lluch et al., 2006; Vijgen et al., 2013; Nijhawan et al., 2013). Důvodem k rozdílným výsledkům může být jiná metoda hmotnostní redukce (prostá kalorická restrikce vs. bariatrická chirurgie) a také zcela rozdílný design studie (*in vitro* kalorická restrikce na hlodavčím modelu vs. dietní intervence u pacientů). Přispívat může i fakt, že výrazně nízkokalorická dieta krátkého trvání je celkově považována za určitý typ metabolického stresu, který je spojena se zvýšením exprese prozánětlivých cytokinů v tukové tkáni (Snel et al., 2011). Vlivem VLCD došlo k normalizaci aktivity komplexu I a k redukci aktivity komplexu IV respiračního řetězce v krevních destičkách, což ale naznačuje, že i krátká dietní intervence může zlepšit mitochondriální funkci bez ohledu na hladinu genové exprese jednotlivých proteinů. Za určitou limitaci naší studie, která může ovlivňovat interpretaci dosažených výsledků, lze považovat použití jiného typu krevních buněk (periferní monocyty vs. krevní destičky) ke

stanovení mRNA exprese a aktivity mitochondriálních enzymů, ačkoliv ve výzkumu jsou jak PM, tak krevní destičky rutinně používaným, dobře dostupným zdrojem mitochondrií k hodnocení jejich morfologie a funkce (Zharikov a Shiva, 2013; Widlansky et al., 2010). PM a krevní destičky mají obdobné metabolické nároky jako lymfocyty a neutrofilie a oba krevní elementy mohou sloužit jako senzory metabolického a zánětlivého stresu v organizmu (Kramer et al., 2014).

10 ZÁVĚR A SHRnutí VÝSLEDKŮ PRÁCE

Obezita a diabetes mellitus 2. typu jsou v současnosti onemocnění s pandemickým výskytem. Tato metabolická onemocnění díky svému vysokému výskytu a výraznému zvýšení kardiovaskulárního rizika podstatně přispívají k morbiditě a mortalitě populace. Velmi významný je také ekonomický dopad těchto onemocnění na celou společnost. Za ústřední faktor v rozvoji metabolických onemocnění a jejich komplikací je považována bílá tuková tkáň. Tato tkáň je již všeobecně uznávána jako největší endokrinně aktivní a zároveň imunitně činný orgán lidského těla. V důsledku nárůstu objemu bílé tukové tkáně dochází k dysregulaci metabolických pochodů s její následnou metabolickou i endokrinní dysfunkcí. Ta se mimo jiné projevuje i na buněčné úrovni v poruše mitochondriální biogeneze a mitochondriálních metabolických procesů. Dále se mění produkce adipokinů a rozvíjí se stav chronického subklinického zánětu. Dlouhodobá dysfunkce tukové tkáně souvisí s hyperinzulinémií, inzulinovou rezistencí a následně i s rozvojem diabetes mellitus 2. typu. Naopak redukce hmotnosti a pravidelná fyzická aktivita pozitivně ovlivňují funkci tukové tkáně, stoupají hladiny adipokinů s příznivým metabolickým profilem a klesá hladina prozánětlivě působících faktorů. Jako velmi nadějná metoda redukce tělesné hmotnosti i zlepšení metabolických parametrů se jeví bariatrická chirurgie. Dle výsledků mnohých studií vede bariatrická operace k významnější a déle udržitelné redukci tělesné hmotnosti než prostá kalorická restrikce. Po bariatrických výkonech dochází také ke zlepšení metabolického profilu pacientů včetně zlepšení kompenzace DM 2. typu až jeho úplné remise. Tento efekt bariatrické chirurgie může být částečně potencován i změnami hladin adipokinů a prozánětlivých cytokinů. V naší práci jsme ukázali, že sérové koncentrace dvou adipokinů s inzulin-senzitizujícími a protizánětlivými účinky, adiponektinu a omentinu-1, jsou u obézních subjektů a u pacientů s diabetes mellitus 2. typu významně sniženy v porovnání se štíhlými jedinci. Po bariatrickém výkonu – tubulizaci žaludku (LSG) jsme pozorovali významné snížení hmotnosti a také signifikantní zlepšení parametrů glukózového metabolismu. Operačním výkonem byly ovlivněny i hladiny adipokinů. Sérové koncentrace omentinu i adiponektinu se významně zvýšily a toto zvýšení přetrvávalo i dva roky od bariatrického výkonu. Zároveň došlo ke zlepšení parametrů glukózového metabolismu, významně poklesly hladiny inzulinu, HOMA indexu i glykovaného hemoglobinu. Prostá kalorická restrikce ani pravidelná fyzická aktivita tento efekt na sledované adipokiny neměla, konzervativní metody léčby také nevedly k tak významné a dlouhodobé redukci hmotnosti

jako bariatrická operace. Zlepšení metabolického profilu pacientů po LSG je tedy velmi pravděpodobně částečně zprostředkováno změnou endokrinní produkce tukové tkáně.

Podíl mitochondriální dysfunkce na vzniku inzulinové rezistence a diabetes mellitus 2. typu je již několik let žhavým tématem. Ukazuje se, že pacienti s obezitou i s diabetem 2. typu mají snížený celkový počet mitochondrií i jejich velikost. Dále jsou přítomny poruchy mitochondriálních procesů v metabolicky aktivních orgánech vč. kosterního svalu, pankreatu a tukové tkáně. Široce diskutována je otázka, zda je mitochondriální dysfunkce příčinou či důsledkem patologických procesů souvisejících s rozvojem metabolických onemocnění. Recentní studie však naznačují, že mitochondriální dysfunkce přímo souvisí s rozvojem těchto onemocnění a není pouze jejich důsledkem. Strava s nadměrným obsahem energie dlouhodobě převažujícím nad energetickým výdejem vede k substrátovému přetížení mitochondrií, respektive mitochondriálního respiračního řetězce, dochází k poruchám tvorby ATP a ve zvýšené míře jsou produkovány volné kyslíkové radikály. Ty vedou k vystupňování oxidačního stresu organismu a poškození citlivých, metabolicky aktivních tkání. V dalším bludném kruhu jsou pak mitochondrie poškozovány a vzniká terén přispívající k rozvoji DM 2. typu. V naší práci jsme prokázali, že obézní pacienti i diabetici 2. typu mají v podkožní tukové tkáni sníženou genovou expresi proteinů zastoupených v respiračním řetězci a procesu oxidativní fosforylace a mají také změněnou aktivitu jednotlivých enzymatických komplexů respiračního řetězce. Tyto změny jsou ještě více vyjádřeny u diabetiků 2. typu proti pacientům s prostou obezitou. Nízkokalorická dieta s redukcí tělesné hmotnosti však měla na sledované parametry spíše nekonzistentní vliv. Je možné, že nedostatečný efekt VLCD je způsoben kratší délkou jejího trvání, i faktem, že tento typ kalorické restrikce je někdy považován za určitý typ metabolického stresu. Je možné, že při delším trvání dietní intervence s menší kalorickou restrikcí nebo vlivem pozitivního efektu bariatrického výkonu by pak došlo ke zlepšení parametrů mitochondriální dysfunkce, jak je popisováno v literatuře.

Další výzkum a hlubší pochopení patofyziologických mechanismů souvisejících s obezitou a rozvojem diabetes mellitus 2. typu je nezbytně nutný pro nalezení možností cílené terapie a to včetně léčby cílené na intracelulární úrovni, jakou by byla intervence v oblasti mitochondriálních metabolických procesů. Bariatrická chirurgie je nadějnou nefarmakologickou metodou, která vede nejen k redukcí tělesné hmotnosti, ale pozitivně ovlivňuje i hladiny adipokinů, a tedy i endokrinní dysfunkci tukové tkáně. Průkaz zvýšení hladin pozitivně působících adipokinů v naší práci považujeme za podklad pro toto tvrzení.

11 SEZNAM LITERATURY

1. Al-Gareeb AI, Alrubai HF, Suliaman SM. Effects of gliclazide add on metformin on serum omentin-1 levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Indian J Endocrinol Metab*; 2016, 20: 195-198
2. Amar J, Brucelin R, Ruidavets JB, Cani PD, Fauvel J, Alessi MC, Chamontin B, Ferrières J. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am J Clin Nutr*; 2008, 87: 1219-23
3. Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, Metzler KD, Zychlinsky A. Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annu Rev Immunol*; 2012, 30: 459-489
4. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*; 1999, 257(1): 79-83
5. Arkan MC, Hevener AL, Greten FR, Maeda S, Li ZW, Long JM, Wynshaw-Boris A, Poli G, Olefsky J, Karin M. IKK- β links inflammation to obesity induced insulin resistance. *Nat Med*; 2005, 11: 191-198
6. Auget T, Quintero Y, Riesco D, Morancho B, Terra X, Crescenti A, Broch M, Aguilar C, Olona M, Porras JA, Hernandez M, Sabench F, Del Castillo D, Richart C. New adipokines vaspin and omentin. Circulating levels and gene expression in adipose tissue from morbidly obese women. *BMC Med Genet*; 2011, 12: 60
7. Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. *NEJM*; 1978, 298: 659-668
8. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci*; 2004, 101(44): 15718-23
9. Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci*; 2007, 104(3): 979-84
10. Baglioni S, Cantini G, Poli G, Francalanci M, Squecco R, Di Franco A, Borgogni E, Frontera S, Nesi G, Liotta F, Lucchese M, Perigli G, Francini F, Forti G, Serio M, Luconi M. Functional differences in visceral and subcutaneous fat pads originate from differences in the adipose stem cell. *PLoS One*; 2012, 7(5): e36569

11. Banga A, Bodles AM, Rasouli N, Ranganathan G, Kern PA, Owens RJ. Calcium is involved in formation of high molecular weight adiponectin. *Metab Syndr Relat Disord*; 2008, 6: 103-111
12. Banga A, Unal R, Tripathi P, Pokrovskaya I, Owens RJ, Kern PA, Ranganathan G. Adiponectin translation is increased by the PPARgamma agonists' pioglitazone and omega-3 fatty acids. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 2009, 296: E480-E489
13. Bashn N, Kovsan J, Kachko I, Ovadia H, Rudich A. Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species. *Physiol Rev*; 2009, 89: 27-71
14. Batra A, Siegmund B. The role of visceral fat. *Dig Dis*; 2012, 30(1): 70-4
15. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical approach to multiple testing. *J Royal Stat Soc Ser B (Methodological)*; 1995, 57: 289-300
16. Berndt J, Klotting N, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schon MR, Stumvoll M, Bluher M. Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans. *Diabetes*; 2005, 54: 2911-2916
17. Blondin DP, Labbe SM, Noll C, Kunach M, Phoenix S, Guérin B, Turcotte EE, Carpentier AC, Richard D, Haman F. Increase brown adipose tissue oxidative capacity in cold-acclimated humans. *J Clin Endocrinol Metab*; 2014, 99: E438-46
18. Blüher M. Adipose tissue dysfunction in obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*; 2009, 117(6): 241-50
19. Blüher M. Clinical relevance of adipokines. *Diabetes Metab J*; 2012, 35 (6): 317-327
20. Blüher M. Adipokines – removing road blocks to obesity and diabetes therapy. *Mol Metab*; 2014, 3: 230-40
21. Bodles AM, Varma V, Yao-Borengasser A, Phanavanh B, Peterson GA et al. Pioglitazone induces apoptosis of macrophages in human adipose tissue. *J Lipid Res*; 2006, 47: 2080-2088
22. Bogacka I, Ukropcova B, McNeil M, Gimble JM, Smith SR. Structural and functional consequences of mitochondrial biogenesis in human adipocytes *in vitro*. *J Clin Endocrinol Metab*; 2005, 90: 6650-6656
23. Bohm M, Honzik T, Snajperkova A, Knopova S, Zeman J, Hansikova H. Activities of respiratory chain complexes in isolated platelets. *Klin Biochem Metab*; 2003, 11: 97-101
24. Botella-Carretero JJ, Luque-Ramirez M, Alvarez-Blasco F, Peromingo R, San Millan JL, Escobar-Morreale HF. The increase in serum visfatin after bariatric surgery in

- morbidly obese women is modulated by weight loss, waist circumference, and presence or absence of diabetes before surgery. *Obes Surg*; 2008, 18: 1000-1006
25. Bouhlef MA, Derudas B, Rigamonti E, Dièvert R, Brozek J, Haulon S, Zawadzki C, Jude B, Torpier G, Marx N, Staels B, Chinetti-Gbaguidi G. PPARgamma activation primes human monocytes into alternative M2 macrophages with anti-inflammatory properties. *Cell Metab*; 2007, 6: 137-143
 26. Bourlier, V. and A. Bouloumie. Role of macrophage tissue infiltration in obesity and insulin resistance. *Diabetes Metab*; 2009, 35: 251-60
 27. Bovolenta P, Esteve P, Ruiz JM, Cisneros E, Lopez-Rios J. Beyond Wnt inhibition: new functions of secreted Frizzled-related proteins in development and disease. *J Cell Sci*; 2008, 121: 737-746
 28. Brands M, Verhoven AJ, Serlie MJ. Role of mitochondrial function in insulin resistance. *Adv Exp Med Biol.*; 2012, 942: 215-34
 29. Brunetti L, Orlando G, Ferrante C, Recinella L, Leone S, Chiavaroli A, Di Niso C, Shihreh R, Manippa F, Ricciuti A, Vacca M. Orexigenic effects of omentin-1 related to decreased CART and CRH gene expression and increased norepinephrine synthesis and release in the hypothalamus. *Peptides*; 2013, 44: 66-74
 30. Burnett MS, Lee CW, Kinnaird TD, Stabile E, Durrani S, Dullum MK, Devaney JM, Fishman C, Stamou S, Canos D, Zbinden S, Clavijo LC, Jang GJ, Andrews JA, Zhu J, Epstein SE. The potential role of resistin in atherogenesis. *Atherosclerosis*; 2005, 182: 241-248
 31. Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, Shoelson SE. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK- $\kappa\beta$ and NF- $\kappa\beta$. *Nat Med*; 2005, 11: 183-190
 32. Cai RC, Wei L, DI JZ, Yu HY, Bao YQ, Jia WP. Expression of omentin in adipose tissues in obese and type 2 diabetic patients. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*; 2009, 89: 381-4
 33. Calandra T, Bernhagen J, Mitchell RA, Bucala R. The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor. *J Exp Med*; 1994, 179: 1895-902
 34. Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol*; 2003, 3: 791-800
 35. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget A, Delmée E, Cousin B, Sulpice T, Chamontin B, Ferrières J, Tanti JF, Gibson GR, Casteilla L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin R.

- Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*; 2007, 56: 1761-1772
36. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev*; 2004, 84: 277-359
 37. Carrière A, Carmona MC, Fernandez Y, Rigoulet M, Wenger RH, Pénicaud L, Casteilla L. Mitochondrial reactive oxygen species control the transcription factor CHOP-10/GADD153 and adipocyte differentiation: a mechanism for hypoxia-dependent effect. *J Biol Chem*; 2004, 279: 40462-40469
 38. Carrière A, Fernandez Y, Rigoulet M, Pénicaud L, Casteilla L. Inhibition of preadipocyte proliferation by mitochondrial reactive oxygen species. *FEBS Lett*; 2003, 550: 163-167
 39. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, Wang S, Fortier M, Greenberg AS, Obin MS. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res*; 2005, 46: 2347-2355
 40. Civitarese AE, Carling S, Heilbronn LK, Hulver MH, Ukropcova B, Deutsch WA, Smith SR, Ravussin E. Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. *PLoS Med*; 2007, 4: e76 485-494
 41. Coen PM, Menshikova EV, Distefano G, Zheng D, Tanner CJ, Standley RA, Helbling NL, Dubis GS, Ritov VB, Xie H, Desimone ME, Emith SR, Stefanovic-Racic M, Toledo FGS, Houmard JA, Goodpaster BH. Exercise and weight loss improve muscle mitochondrial respiration, lipid partitioning, and insulin sensitivity after gastric bypass surgery. *Diabetes*; 2015, 64: 3737-3750
 42. Combs TP, Wagner JA, Berger J, Doebber T, Wang WJ, Zhang BB, Tanen M, Berg AH, O'Rahilly S, Savage DB, Chatterjee K, Weiss S, Larson PJ, Gottesdiener KM, Gertz BJ, Charron MJ, Scherer PE, Moller DE. Induction of adipocyte complement-related protein of 30 kilodaltons by PPARgamma agonists: a potential mechanism of insulin sensitization. *Endocrinology*; 2002, 143: 998-1007
 43. Compher C, Badellino KO. Obesity and inflammation: lessons from bariatric surgery. *J Parenter Enteral Nutr*; 2008, 32: 645-647
 44. Conine SJ, Cross JV. MIF deficiency does not alter glucose homeostasis or adipose tissue inflammatory cell infiltrates during diet-induced obesity. *Obesity*; 2013, 22: 418-25
 45. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL et al. Serum immunoreactive-leptin

- concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*; 1996, 334(5): 292-5
46. Constantin-Teodosiu D, Cederblad G, Hultman E. A sensitive radioisotopic assay of pyruvate dehydrogenase complex in human muscle tissue. *Anal Biochem*; 1991, 198: 347-351
 47. Cousin B, Munoz O, Andre M, Fontanilles AM, Dani C, Cousin JL, Laharrague P, Casteilla L, Pénicaud L. A role for preadipocytes as macrophage-like cells. *FASEB J*; 1999, 13:305-12
 48. Curat CA, Miranville A, Sengenès C, Diehl M, Tonus C, Busse R, Boloumié A. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes*; 2004, 53: 1285-92
 49. Dahlman I, Forsgren M, Sjörger A, Nordström EA, Kaaman M, Naslund E, Attersand A, Arner P. Downregulation of electron transport chain genes in visceral adipose tissue in type 2 diabetes independent of obesity and possibly involving tumor necrosis factor- α . *Diabetes*; 2006, 55: 1792-1799
 50. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, Lin JK, Farzadfar F, Khagga YH, Stevens GA, Rao M, Ali MK, Riley LM, Robinson CA, Ezzati M. Global burden of metabolic risk factors of chronic diseases collaborating group (blood glucose). National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systemic analysis of health examination survey and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet*; 2011, 378(9785): 31-40
 51. Daynes RA, Jones DC. Emerging roles of PPARs in inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol*; 2002, 2: 748-759
 52. De Boer AA, Monk JM, Robinson LE. Docosahexaenoic acid decreases pro-inflammatory mediators in an in vitro murine adipocyte macrophage co-culture model. *PloS one*; 2014, 9: e85037
 53. Delaigle AM, Jonas J, Bauche IB, Cornu O, Brichard SM. Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: *in vivo* and *in vitro* studies. *Endocrinology*; 2004, 145: 5589-5597
 54. Després JP, Lemieux I, Bergeron J, Pibarot P, Mathieu P, Larose E, Rodés-Cabau J, Bertrand OF, Poirier P. Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution to global cardiometabolic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 2008, 28: 1039-1049

55. de Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, Ndubuizu K, Patil S, Schwartz A, Kligman M, Fried SK, Gong DW, Shuldiner AR, Pollin TI, McLenithan JC. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes*; 2007, 56: 1655-1661
56. Devarakonda S, Gupta K, Chalmers MJ, Hunt JF, Griffin PR, Van Duyne GD, Spiegelman BM. Disorder-to-order transition underlines the structural basis for the assembly of transcriptionally active PGC-1alpha/ERRgamma complex. *Proc Natl Acad Sci USA*; 2011, 108: 18678-18683
57. Dib LH, Ortega MT, Fleming SD, Chapes SK, Melgarejo T. Bone marrow leptin signaling mediates obesity-associated adipose tissue inflammation in male mice. *Endocrinol*; 2014, 155: 40-46
58. Digby JE, Montague CT, Sewter CP, Sanders L, Wilkison WO, O'Rahilly S, Prins JB. Thiazolidinedione exposure increases the expression of uncoupling protein 1 in cultured human preadipocytes. *Diabetes*; 1998, 47: 138-41
59. Di Giorgio GB, Yao-Borengasser A, Rasouli N, Varma V, Lu T, Miles LM, Ranganathan G, Peterson CA, McGehee RE, Kern PA. Expression of CD68 and macrophage chemoattractant protein-1 genes in human adipose and muscle tissues: association with cytokine expression, insulin resistance, and reduction by pioglitazone. *Diabetes*; 2005, 54: 2305-2313
60. Dilip C, Chalamugath S, Baby M, Pattani D. Prevalence of cardiovascular risk factors and management practices of acute coronary syndrome in a tertiary care hospital. *J Basic Clin Pharmacol*; 2015, 26:547-554
61. Ducimetiere P, Richard J, Cambien F. The pattern of subcutaneous fat distribution in middle-aged men and the risk of coronary heart disease: the Paris Prospective Study. *Int J Obes*; 1986, 10: 229-40
62. Duchene MR. Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology. *Mol Aspects Med*; 2004, 25(4):365-451
63. Duncan SH, Belenguer A, Holtrop G, Johnstone AM, Flint HJ, Lobley GE. Reduced dietary intake of carbohydrate, by obese subjects, results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Appl Environ Microbiol*; 2007, 73: 1073-8
64. Elgazar-Carmon V, Rudich A, Hadad N, Levy R. Neutrophils transiently infiltrate intra-abdominal fat early in the course of high-fat feeding. *J Lipid Res*; 2008, 49: 1894-1903

65. Enerback S. Human brown adipose tissue. *Cell Metab*; 2010, 11: 248-52
66. Enomoto T, Ohashi K, Shibata R, Higuchi A, Maruyama S, Izumiya Y, Walsh K, Murohara T, Ouchi N. Adipolin/C1qdc2/CTRP12 protein functions as an adipokine that improves glucose metabolism. *J Biol Chem*; 2011, 286: 34552-34558
67. Ernster L, Schatz G. Mitochondria: a historical review. *J Cell Biol*; 1981, 91: 227-255
68. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, Giugliano D. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA*; 2003; 289: 1799-1804
69. Fabricius MH, Wilms LK, Larsen J, Pedersen PL, Anthonsen S, Kvetny J. Measure of expression of mitochondrial related genes in human mononuclear blood cells, adipose white tissue and smooth muscle cells. *Clin Chim Acta*; 2010, 411: 749-53
70. Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissue of obese humans. *Endocrinology*; 2004, 145: 2273-2282
71. Fain JN, Sacks HS, Buehrer B, Bahouth SW, Garrett E, Wolf RY, Carter RA, Tichansky DS, Madan AK. Identification of omentin mRNA in human epicardial adipose tissue: comparison to omentin in subcutaneous, internal mammary artery periadventitial and visceral abdominal depots. *Int J Obes*; 2008, 32: 810-815
72. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*; 2005, 115: 911-919
73. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, Hughes IA, McCamish MA, O'Rahilly S. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *New Eng J Med*; 1999, 341: 879-884
74. Farooqi IS, Wangensteen T, Collins S, Kimber W, Matarese G, Keogh JM, Lank E, Bottomley B, Lopez-Fernandez J, Ferraz-Amaro I, Dattani MT, Ercan O, Myhre AG, Rettersol L, Stanhope R, Edge JA, McKenzie S, Lessan N, Ghodsi M, De Rosa V, Perna F, Fontana S, Barroso I, Undlien DE, O'Rahilly S. Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor. *N Engl J Med*; 2007, 356: 237-247
75. Fasshauer M, Kralisch S, Klier M, Lossner U, Bluher M, Klein J, Paschke R. Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*; 2003, 301(4): 1045-1050

76. Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J*; 2002, 16: 1335-1347
77. Fernandez-Real JM, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev*; 2003, 24: 278-301
78. Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, Naaz A, Wong J, Nayer A, Lee J, Goldfine AB, Benoist C, Shoelson S, Mathis D. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat Med*; 2009, 15: 930-939
79. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ, Singh GM, Gutierrez HR, Lu Y, Bahalim AN, Farzadfar F, Riley LM, Ezzati M, Global burden of metabolic risk factors of chronic diseases collaborating group (body mass index). National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet*; 2011, 377(9765): 557-67
80. Fox JEB, Reynolds CC, Boyles JK. Studying the platelet cytoskeleton in Triton X-100 lysates. *Methods Enzymol*; 1992, 215: 42-47
81. Franco JVA, Ruiz PA, Palermo M, Ganger M. A review of studies comparing three laparoscopic procedures in bariatric surgery: sleeve gastrectomy, Roux-en-Y gastric bypass and adjustable gastric banding. *Obes Surg*; 2011, 21: 1458-1468
82. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*; 1998, 83: 847-850
83. Friedmann JM, Hlaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*; 1998, 395: 763-770
84. Fritsche K. Fatty acids as modulators of the immune response. *Ann Rev Nutr*; 2006, 26: 45-73
85. Frohnert BI, Sinaiko AR, Serrot FJ, Fonvea RE, Moran A, Ikramuddin S, Choudry U, Bernlohr DA. Increased adipose protein carbonylation in human obesity. *Obesity (Silver Spring)*; 2011, 19: 1735-1741
86. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E, Takagi T, Akiyoshi M, Ohtsubo T, Kihara S, Yamashita S, Makishima M, Funahashi T, Yamanaka S, Hiramatsu R, Matsuzawa Y, Shimomura I. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science*; 2005, 307: 426-430

87. Funahashi T, Nakamura T, Shimomura I, Maeda K, Kuriyama H, Takahashi M, Arita Y, Kihara S, Matsuzawa Y. Role of adipocytokines on the pathogenesis of atherosclerosis in visceral obesity. *Internal Medicine*; 1999, 38: 202-206
88. Gan L, Guo K, Cremona ML, McGraw TE, Leibel RL, Zhang Y. TNF- α up-regulates protein level and cell surface expression of the leptin receptor by stimulating its export via a PKC-dependent mechanism. *Endocrinol*; 2012, 153: 5821-5833
89. Ganrot PO, Gydell K, Ekelund H. Serum concentration of α -2-macroglobulin, haptoglobin and α -1-antitrypsin in diabetes mellitus. *Acta Endocrinol (Copenh)*; 1967, 55(3): 537-544
90. Galinier A, Carrière A, Fernandez Y, Carpéné C, André M, Caspar-Bauguil S, Thouvenot JP, Périquet B, Pénicaud L, Casteilla L. Adipose tissue proadipogenic redox changes in obesity. *J Biol Chem*; 2006, 281: 12682-12687
91. Gao D, Trayhurn P, Bing C. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits the cytokine induced secretion of MCP-1 and reduces monocytes recruitment by human preadipocytes. *Int J Obes*; 2013, 37: 357-365
92. Gao Z, Hwang D, Bataille F, Lefevre M, York D, Quon MJ, Ze J. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor κ B kinase complex. *J Biol Chem*; 2002, 277: 48115-48121
93. Gellerich FN, Deschauer M, Chen Y, Muller T, Neudecker S, Zierz S. Mitochondrial respiratory rates and activities of respiratory chain complexes correlate linearly with heteroplasmy of deleted mtDNA without threshold and independently of deletion size. *Biochem Biophys Acta*; 2002, 1556: 41-52
94. Ghosh S, Karin M. Missing pieces in the NF- κ B puzzle. *Cell*; 2002, 109: 81-96
95. Ghosh S, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyay S, Ehtesham NZ. The genomic organization of mouse resistin reveals major differences from the human resistin: functional implications. *Gene*; 2003, 305: 27-34
96. Gianotti TF, Sookoian S, Dieuzeide G, García SI, Gemma C, González CD, Pirola CJ. A decreased mitochondrial DNA content is related to insulin resistance in adolescents. *Obesity*; 2008, 16: 1591-5
97. Giralt M, Villarroya F. White, brown, beige/brite: different adipose cells for different functions? *Endocrinol*; 2013, 154: 2992-3000
98. Gonzalez-Gay MA, De Matias JM, Gonzalez-Juanatey C, Garcia-Porrúa C, Sanchez-Andrade A, Martin J, Llorca J. Anti-tumor necrosis factor- α blockade improves insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*; 2006, 24: 83-86

99. Goodpaster BH, He J, Watkins S, Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance-trained athletes. *J Clin Endocrinol Metab*; 2001, 86(12): 5755-5761
100. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev*; 2003, 3: 23-35
101. Gotkas Z, Moustaid-Moussa N, Shen CL, Boylan M, Mo H, Wang S. Effects of bariatric surgery on adipokine-induced inflammation and insulin resistance. *Front Endocr*; 2013, 4: 1-13
102. Graham TE, Yang Q, Bluher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, Wason CJ, Oberbach A, Jansson PA, Smith U. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese and diabetic subjects. *New Eng J Med*; 2006, 354: 2552-2563
103. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Ann Rev Immunol*; 2011, 29: 415-445
104. Gruen ML, Hao M, Piston DW, Hasty AH. Leptin requires canonical migratory signaling pathways for induction of monocyte and macrophage chemotaxis. *Am J Physiol*; 2007, 293: C1481-1488
105. Guo LJ, Jiang TJ, Liao L, Liu H, He HB. Relationship between serum omentin-1 level and bone mineral density in girls with anorexia nervosa. *J Endocrinol Invest*; 2013, 36: 190-194
106. Haas KM, Poe JC, Steeber DA, Tedder TF. B-1a and B-1b cells exhibit distinct developmental requirements and have unique functional roles in innate and adaptive immunity to *S. pneumoniae*. *Immunity*; 2005, 23: 7-18
107. Handisurya A, Riedl M, Vila G, Maier C, Clodi M, Prikozovich T, Ludvik B, Prager G, Luger A, Kautzky-Willer A. Serum vaspin concentrations in relation to insulin sensitivity following RYGB-induced weight loss. *Obes Surg*; 2010, 20: 198-203
108. Harford KA, Reynolds CM, McGillicuddy FC, Roche HM. Fats, inflammation and insulin resistance: insights to the role of macrophage and T-cell accumulation in adipose tissue. *Proc Nutr Soc*; 2011, 70: 408-17
109. Heidemann C, Sun Q, van Dam RM, Meigs JB, Zhang C, Tworoger SS, Mantzoros CS, Hu FB. Total and high-molecular-weight adiponectin and resistin in relation to the risk for type 2 diabetes in women. *Ann Int Med*; 2008, 149: 307-316
110. Heinonen S, Buzkova J, Muniandy M, Kaksonen R, Ollikainen M, Ismail K, Hakkarainen A, Lundbom J, Lundbom N, Vuolteenaho K, Moilanen E, Kaprio J, Rissanen A, Suomalainen A, Pietiläinen KH. Impaired mitochondrial biogenesis in adipose tissue in acquired obesity. *Diabetes*; 2015, 64: 3135-45

111. Herder C, Ouwens DM, Carstensen M, Kowall B, Huth C, Meisinger C, Rathmann W, Roden M, Thorand B. Adiponectin may mediate the association between omentin, circulating lipids and insulin sensitivity: results from the KORA F4 study. *Eur J Endocrinol*; 2015, 172: 423-432
112. Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A, Hashimoto I, Okada T, Yasuhara A, Nakatsuka A, Shikata K, Hourai S, Futami J, Watanabe E, Matsuki Y, Hiramatsu R, Akagi S, Makino H, Kanwar YS. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci*; 2005, 102: 10610-10615
113. Hořejší V, Bartůňková J. Základy imunologie. 2002; Triton.
114. Hosogai N, Fukuhara A, Oshima K, Miyata Y, Tanaka S, Segawa K, Furukawa S, Tochino Y, Komuro R, Matsuda M, Shimomura I. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes*; 2007, 56: 901-9011
115. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*; 1993, 259(509): 87-91
116. Huang D, Huang S, Gao H, Liu Y, Qi J, Chen P, Wang C, Scragg JL, Vacurov A, Peers C, Du X, Zhang H, Gamper N. Redox-dependent modulation of T-type Ca^{2+} channels in sensory neurons contributes to acute anti-nociceptive effect of substance P. *Antioxid Redox Signal*; 2016, [Epub ahead of print]
117. Huber J, Kiefer FW, Zeyda M, Ludvik B, Silberhumer GR, Prager G, Zlabinger GJ, Stulnig TM. CC chemokine and CC chemokine receptor profiles in visceral and subcutaneous adipose tissue are altered in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab*; 2008, 93: 3215-21
118. Chan JL, Heist K, DePaoli AM, Veldhuis JD, Mantzoros CS. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. *J Clin Invest*; 2003, 111(9): 1409-21
119. Chang HM, Lee HJ, Park HS, Kang JH, Kim KS, Song YS, Jang YJ. Effects of weight reduction on serum vaspin concentrations in obese subjects: modification by insulin resistance. *Obesity*; 2010, 18: 2105-2110
120. Charriere G, Cousin B, Arnaud E, Andre M, Bacou F, Penicaud L, Casteilla L. Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J Biol Chem*; 2003, 278: 9850-5

121. Chattopadhyay M, Guhathakurta I, Behera P, Ranjan KR, Khanna M, Mukhopadhyay S, Chakrabarti S. Mitochondrial bioenergetics is not impaired in nonobese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*; 2011, 60: 1702-1710
122. Chen BH, Song Y, Ding EL, Roberts CK, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Gaziani JM, Liu S. Circulating levels of resistin and risk of type 2 diabetes in men and women: results from two prospective cohorts. *Diab Care*; 2009, 32: 329-334
123. Cherian E, Sudheesh NP, Janardhanan KK, Patani G. Free-radical scavenging and mitochondrial antioxidant activities of Reishi-Ganoderma lucidum(Curt: Fr) P. Karst and Arogyapacha-Trichopus zeylanicus Gaert extracts. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*; 2009, 20: 289-307
124. Choksi KB, Boylston WH, Rabek JP, Widgr WR, Papaconstantinou J. Oxidatively damaged proteins of heart mitochondrial electron complexes. *Biochim Biophys Acta*; 2004, 1688: 95-101
125. Choo HJ, Kim JH, Kwon OB, Lee CS, Mun JY, Han SS, Yoon YS, Yoon G, Choi KM, Ko YG. Mitochondria are impaired in the adipocytes of type 2 diabetic mice. *Diabetologia*; 2006, 49: 784-791
126. Indulekha K, Anjana RM, Surendar J, Mohan V. Association of visceral and subcutaneous fat with glucose intolerance, insulin resistance, adipocytokines and inflammatory markers in Asian Indians (CURES-113). *Clin Biochem*; 2011, 44(4):281-7
127. International Diabetes Federation. IDF Diabetes atlas. 6th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2013. <http://www.idf.org/diabetesatlas>
128. Iwaki M, Matsuda M, Maeda N, Funahashi T, Matsuzawa Y, Makishima M, Shimomura I. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes*; 2003, 52: 1655-1663
129. Jahansouz C, Serrot FJ, Frohnert BI, Foncea RE, Dorman RB, Slusarek B, Leslie DB, Bernlohr DA, Ikramuddin S. Roux-en-Y gastric bypass acutely decreases protein carbonylation and increases expression of mitochondrial biogenesis genes in subcutaneous adipose tissue. *Obes Surg*; 2015, 25: 2376-2385
130. Jaillon S, Galdiero MR, Del Prete D, Cassatella MA, Garlanda C, Mantovani A. Neutrophils in innate and adaptive immunity. *Semin Immunopathol*; 2013, 35: 377-394
131. Jialal I, Devaraj S, Kaur H, Adams-Huet B, Bremer AA. Increased chemerin and decreased omentin -1 in both adipose tissue and plasma in nascent metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*; 2013, 98(3): E514-E517

- 132.Jiao P, Chen Q, Shah S, Du J, Tao B, Tzamelis I, Yan W, Xu H. Obesity-related upregulation of monocyte chemotactic factors in adipocytes: involvement of nuclear factor-kappaB and c-Jun NH2-terminal kinase pathways. *Diabetes*; 2009, 58: 104-15
- 133.Jumabay M, Matsumoto T, Yokoyama S, Kano K, Kusumi Y, Masuko T, Mitsumata M, Saito S, Hirayama A, Mugishima H, Fukuda N. Dedifferentiated fat cells convert to cardiomyocyte phenotype and repair infarcted cardiac tissue in rats. *J Mol Cell Cardiol*; 2009, 47: 565-75
- 134.Jumabay M, Zhang R, Yao Y, Goldhaber JI, Bostrom KI. Spontaneously beating cardiomyocytes derived from white mature adipocytes. *Cardiovasc Res*; 2010, 85: 17-27
- 135.Jung SH, Park HS, Kim KS, Choi WH, Ahn CW, Kim BT, Kim SM, Lee SY, Ahn SM, Kim YK, Kim HJ, Kim DJ, Lee KW. Effect of weight loss on some serum cytokines in human obesity: increase in IL-10 after weight loss. *J Nutr Biochem*; 2008, 19:371–375
- 136.Jung UJ, Torrejon C, Chang CL, Hamai H, Worgall TS, Deckelbaum RJ. Fatty acids regulate endothelial lipase and inflammatory markers in macrophage and in mouse aorta: a role for PPARgamma. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*; 2012, 32: 2929-2937
- 137.Kaaman M, Strong association between mitochondrial DNA copy number and lipogenesis in human white adipose tissue. *Diabetologia*; 2007, 50: 2526-2533
- 138.Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev*; 2005, 26: 439-451
- 139.Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N. The physiological and pathophysiological role of adiponectin and adiponectin receptors in the peripheral tissues and CNS. *FEBS Lett*; 2008, 582: 74-80
- 140.Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*; 2006, 116: 1784-1792
- 141.Kamei N, Tobe K, Suzuki R, Ohsugi M, Watanabe T, Kubota N, Ohtsuka-Kowatari N, Kumagai K, Sakamoto K, Kobayashi M, Yamauchi T, Ueki K, Oishi Y, Nishimura S, Manabe I, Hashimoto H, Ohnishi Y, Ogata H, Tokuyama K, Tsunoda M, Ide T, Murakami K, Nagai R, Kadowaki T. Overexpression of monocyte chemoattractant protein-1 in adipose tissues causes macrophage recruitment and insulin resistance. *J Biol Chem*; 2006, 281: 26602-14

- 142.Kaminski DA, Randall TD. Adaptive immunity and adipose tissue biology. *Trends Immunol*; 2010, 31: 384-390
- 143.Kanda H, Tateya A, Tamori Y, Kotani K, Hiasa K, Katazawa R, Kitazawa S, Miyachi H, Maeda S, Egashira K, Kasuga M. MCP-1 contributes to macrophage infiltration in adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest*; 2006, 116: 1494-505
- 144.Kaplan JL, Marshall MA, McSkimming CC, Harmon DB, Garmey JC, Oldham SN, Hallowell P, McNamara CA. Adipocyte progenitor cells initiate monocyte chemoattractant protein-1-mediated macrophage accumulation in visceral adipose tissue. *Mol Metab*; 2015, 4: 779-794
- 145.Kaser S, Kaser A, Sandhofer A, Ebenbichler CF, Tilg H, Patsch JR. Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun*; 2003, 309: 286-290
- 146.Kazama K, Usui T, Okada M, Hara Y, Yamawaki H. Omentin plays an anti-inflammatory role through inhibition of TNF- α -induced superoxide production in vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol*; 2012, 686: 116-23
- 147.Keller MP, Attie AD. Physiological insights gained from gene expression analysis in obesity and diabetes. *Ann Rev Nutr*; 2010, 30: 341-364
- 148.Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes*; 2002, 51: 2944-2950
- 149.Keophiphath M, Rouault C, Divoux A, Clément K, Lacasa D. CCL5 promotes macrophage recruitment and survival in human adipose tissue. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 2010, 30: 39-45
- 150.Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*; 2004, 89: 2548-56
- 151.Khan S, Raghuram GV, Bhargava A, Pathak N, Chandra DH, Jain SK, Mishra PK. Role and clinical significance of lymphocyte mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Trans Res*; 2011, 158: 344-59
- 152.Kim HJ, Higashimori T, Park SY, Choi H, Dong J, Kim YJ, Noh HL, Cho YR, Cline G, Kim YB, Kim JK. Differential effects of interleukin-6 and -10 on skeletal muscle and liver insulin action *in vivo*. *Diabetes*; 2004, 53: 1060-1067
- 153.Kim J, Wei Y, Sowers JR. Role of mitochondrial dysfunction in insulin resistance. *Circ Res*; 2008, 102: 401-414

- 154.Kintscher U, Hatge M, Hess K, Foryst-Ludwig A, Clemenz M, Wabitsch M , Fischer-Posovszky P, Barth TF, Dragun D, Skurk T, Hauner H, Blüher M, Unger T, Wolf AM, Knippschild U, Hombach V, Marx N. T-lymphocyte infiltration in visceral adipose tissue: a primary event in adipose tissue inflammation and the development of obesity-mediated insulin resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 2008, 28: 1304-1310
- 155.Kirk EA, Sagawa ZK, McDonald TO, O'Brien KD, Heinecke JW. Monocyte chemoattractant protein deficiency fails to restrain macrophage infiltration into adipose tissue [corrected]. *Diabetes*; 2008, 57: 1254-61
- 156.Kjeldsen L, Bainton DF, Sengelov H, Boregaard N. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel matrix protein of specific granules in human neutrophils. *Blood*; 1994, 83: 799-807
- 157.Kloučková J, Lacinová Z, Kaválková P, Trachta P, Kasalický M, Haluzíková D, Mráz M, Haluzík M. Plasma concentrations and subcutaneous adipose tissue mRNA expression of clusterin in obesity and type 2 diabetes mellitus: the effect of short-term hyperinsulinemia, very-low-calorie diet and bariatric surgery. *Physiol Res*; 2016, 65: 481-92
- 158.Knights AJ, Funnel AP, Pearson RC, Crossley M, Bell-Anderson KS. Adipokines and insulin action: A sensitive issue. *Adipocyte*; 2014, 3(2): 88-96
- 159.Kondo T, Toyoshima Y, Ishii Y, Kyuwa S. Natural killer T cells in adipose tissue are activated in lean mice. *Exp Anim*; 2013, 62: 319-328
- 160.Kralisch S, Klieun J, Bluher M, Paschke R, Stumvoll M, Fasshauer M. Therapeutic perspectives of adipocytokines. *Expert Opin Pharmacother*; 2005, 6: 863-872
- 161.Kramer PA, Ravi S, Chacko B, Johnson MS, Darley-Usmar VM. A review of the mitochondrial and glycolytic metabolism in human platelets and leukocytes: implications for their use as bioenergetics markers. *Redox Biol*; 2014, 2: 206-210
- 162.Kraunsoe R, Boushel R, Hanse CN, Schjerling P, Qvortrup K, Stockel M, Mikines KJ, Dela F. Mitochondrial respiration in subcutaneous and visceral adipose tissue from patients with morbid obesity. *J Physiol*; 2010, 588: 2023-2032
- 163.Kusminksi CM, McTernan PG, Kumar S. Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci (Lon)*; 2005, 109: 243-256
- 164.Kotnik P, Fischer-Posovszky P, Wabitsch M. RBP4: a controversial adipokine. *Eur J Endocrinol*; 2011, 165: 703-711
- 165.Kusminski CM, Scherer PE. Mitochondrial dysfunction in white adipose tissue. *Trends Endocrinol Metab*; 2012, 23: 435-443

- 166.Kusminski CM, McTernan PG, Schraw T, Kos K, O'Hare JP, Ahima R, Kumar S, Scherer PE. Adiponectin complexes in human cerebrospinal fluid: distinct complex distribution from serum. *Diabetologia*; 2007, 50: 634-642
- 167.La Cava A, Matarese G. The weight of leptin in immunity. *Immunology*; 2004, 4: 371-379
- 168.Laderoute KR, Webster KA. Hypoxia/reoxygenation stimulates Jun kinase activity through redox signaling in cardiac myocytes. *Circ Res*; 1997, 80: 336-44
- 169.Ledvina M, Stoklasová A, Cerman J. Biochemie pro studující medicíny. *Karolinum*; 2009
- 170.Lee HK, Song Jh, Shin CS, Park DJ, Park KS, Lee KU, Koh CS. Decreased mitochondrial DNA content in peripheral blood precedes the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diab Res Clin Pract*; 1998, 42: 161-167
- 171.Lee JK, Schnee J, Pang M, Wolfert M, Baum LG, Moremen KW, Pierce M. Human homologs of the *Xenopus* oocyte cortical granule lectin XL35. *Glycobiology*; 2001, 11: 65-73
- 172.Lee P, Smith S, Linderman J, Courville AB, Brychta RJ, Dieckmann W, Werner CD, Chen KY, Celi FS. Temperature-acclimated brown adipose tissue modulates insulin sensitivity in humans. *Diabetes*; 2014, 63: 3686-98
- 173.Lehr S, Hartwig S, Sell H. Adipokines: a treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. *Proteomics – Clin App*; 2012, 6: 91-101
- 174.Ley RA, Turnabaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*; 2006, 444: 1009-10
- 175.Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci*; 2005, 102(31):11070-5
- 176.Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systemic review and meta-analysis. *Journal of American Medical Associations*; 2009, 302: 179-188
- 177.Lim JH, Lee HJ, Ho Jung M, Song J. Coupling mitochondrial dysfunction to endoplasmatic reticulum stress response: a molecular mechanism leading to hepatic insulin resistance. *Cell Signal*; 2009, 21: 169-177
- 178.Liu J, Divoux A, Sun J, Zhang J, Clement K, Glickman JN, Sukhova GK, Wolters PJ, Du J, Gorgun CZ, Doria A, Libby P, Blumberg RS, Kahn BB, Hotamisligil GS, Shi GP. Genetic deficiency and pharmacological stabilization of mast cells reduce diet-induced obesity and diabetes in mice. *Nat Med*; 2009, 15: 940-945

- 179.Loh K, Deng H, Fukushima A, Cai X, Boivin B, Galic S, Bruce C, Shields BJ, Skiba B, Ooms LM, Stepto N, Wu B, Mitchell CA, Tonks NK, Watt MJ, Febbraio MA, Crack PJ, Andrikopoulos S, Tiganis T. Reactive oxygen species enhance insulin sensitivity. *Cell Metab*; 2009, 10: 260-272
- 180.López-Bermejo A, Chico-Juliá B, Fernández-Balsells M, Recasens M, Esteve E, Casamitjana R, Ricart W, Fernández-Real JM. Serum visfatin increases with progressive beta-cell deterioration. *Diabetes*; 2006, 55: 2871-2875
- 181.Lopez-Lluch G, Hunt N, Jones B, Zhu M, Jamieson H, Hilmer S, Cascajo MV, Allard J, Ingram DK, Navas P, de Cabo R. Calorie restriction induces mitochondrial biogenesis and bioenergetics efficiency. *Proc Natl Acad Sci USA*; 2006, 103: 1768-1773
- 182.Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science*; 2005, 307: 384-7
- 183.Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AI, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*; 1951, 193: 265-275
- 184.Lu RH, Ji H, Chang ZG, Su SS, Yang GS. Mitochondrial development and the influence of its dysfunction during rat adipocyte differentiation. *Mol Biol Rep*; 2010, 37: 2173-2182
- 185.Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*; 2007, 117: 175-184
- 186.Lumeng CN, DelProposto JB, Westcott DJ, Saltiel AR. Phenotypic switching of adipose tissue macrophages with obesity is generated by spatiotemporal differences in macrophage subtypes. *Diabetes*; 2008, 57: 3239-3246
- 187.Lynch L, Nowak M, Adipose tissue invariant NKT cells protect against diet-induced obesity and metabolic disorders through regulatory cytokine production. *Immunity*; 2012, 37: 574-587
- 188.Lynch M. Adipose invariant natural killer T cells. *Immunology*; 2014, 142: 337-346
- 189.Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med*; 2002, 8(7): 731-7
- 190.Mandal A. What is bariatric surgery? *News medical*; 2014, <http://www.news-medical.net/health/What-is-Bariatric-Surgery.aspx>

- 191.Mandal P, Pratt BT, Barnes M, McMullen MR, Nagy LE. Molecular mechanism for adiponectin-dependent M2 macrophage polarization: link between the metabolic and innate immune activity of full-length adiponectin. *J Biol Chem*; 2011, 286: 13460-13469
- 192.Marantos G, Daskalakis M, Karkavitsas N, Matalliotakis I, Papadakis JA, Melissas J. Changes in metabolic profile and adipoinsular axis in morbidly obese premenopausal females treated with restrictive bariatric surgery. *World J Surg*; 2011, 35: 2022-2030
- 193.Matthews VB, Allen TL, Risis S, Chan MH, Henstridge DC, Watson N, Zaffino LA, Babb JR, Boon J, Meikle PJ, Jowett JB, Watt MJ, Jansson JO, Bruce CR, Febbraio MA. Interleukin-6-deficient mice develop hepatic inflammation and systemic insulin resistance. *Diabetologia*; 2010, 53: 2431-2441
- 194.Merz TM, Pichler Hefti J, Hefti U, Huber A, Jakob SM, Takala J, Djafarzadeh S. Changes in mitochondrial enzymatic activities of monocytes during prolonged hypobaric hypoxia and influence of antioxidants: A randomized controlled study. *RedoxRep*; 2015, 20: 234-40
- 195.Meza-Miranda ER, Camargo A, Rangel-Zuniga OA, Delgado-Lista J, Garcia-Rios A, Perez-Martinez P, Tasset-Cuevas I, Tunez I, Tinahones FJ, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J. Postprandial oxidative stress is modulated by dietary fat in adipose tissue from elderly people. *Age (Dordr.)*; 2014, 36: 507-17
- 196.Miller RS, Diaczok D, Cooke DW. Repression of GLUT4 expression by the endoplasmic reticulum stress response in 3T3-L adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*; 2007, 362: 188-92
- 197.Mitchell T, Darley-Usmar V. Metabolic syndrome and mitochondrial dysfunction: insights from preclinical studies with mitochondrially targeted antioxidant. *Free Rad Biol Med*; 2012, 52: 838-840
- 198.Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB, O'Rahilly S. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*; 1997, 387: 903-908
- 199.Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson KF, Subramanian A, Sihag S, Lehar J, Puigserver P, Carlsson E, Ridderstrale M, Laurila E, Houstis N, Daly MJ, Patterson N, Mesirov JP, Golub TR, Tamayo P, Spiegelman B, Lander ES, Hirschhorn JN, Altshuler D, Groop LC. PGC-1 α -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nat Genet*; 2003, 34: 2607-273

200. Moreno-Navarrete JM, Catalán V, Ortega F, Gómez-Ambrosi J, Ricart W, Frühbeck G, Fernández-Real JM. Circulating omentin concentration increases after weight loss. *Nutr Metab*; 2010, 7: 27
201. Morino K, Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Frattini J, Shatzkes N, Neschen S, White MF, Bilz S, Sono S, Pypaert M, Shulman GI. Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. *J Clin Invest*; 2005, 115: 3587-3593
202. Morton GJ, Gelling RW, Niswender KD, Morrison CD, Rhodes CJ, Schwartz MW. Leptin regulates insulin sensitivity via phosphatidylinositol-3-OH kinase signaling in mediobasal hypothalamic neurons. *Cell Metabolism*; 2005, 2: 411-420
203. Mráz M, Haluzík M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *J Endocrinol*; 2014, 222: R113-R127
204. Mráz M, Lacinová Z, Drápalová J, Haluzíková D, Horinek A, Matoulek M, Trachta P, Kaválková P, Svačina S, Haluzík M. The effect of very-low calorie diet on mRNA expression of inflammation-related genes in subcutaneous adipose tissue and peripheral monocytes of obese patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*; 2011, 96: 606-613
205. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's biochemistry. *Appleton & Lange*; 1993
206. Neschen S, Morino K, Rossbacher JC, Pongratz RL, Cline GW, Sono S, Gillum M, Shulman GI. Fish oil regulates adiponectin secretion by a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-dependent mechanism in mice. *Diabetes*; 2006, 55: 924-928
207. Nguyen MT, Favelyuis S, Nguyen AK, Reichart D, Scott PA, Jenn A, Liu-Bryan R, Glass CK, Neels JG, Olefsky JM. A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via Toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *J Biol Chem*; 2007, 282: 35279-3529
208. Nguyen MT, Satoh H, Favelyukis S, Babendure JL, Imamura T, Sbodio JI, Zalevsky J, Dahiyat BI, Chi NW, Olefsky JM. JNK and tumor necrosis factor- α mediate free fatty acid-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*; 2005, 280: 35361-35371
209. Nijhawan S, Richards W, O'Hea MF, Audia JP, Alvarez DF. Bariatric surgery rapidly improves mitochondrial respiration in morbidly obese patients. *Surg Endosc*; 2013, 27: 4569-73

210. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, Otsu M, Hara K, Ueki K, Sugiura S, Yoshimura K, Kadowaki T, Nagai R. CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med*; 2009, 15: 914-920
211. Odegaard JI, Ricardo-Gonzalez RR, Goforth MH, Morel CR, Subramanian V, Mukundan L, Red Eagle A, Vats D, Brombacher F, Ferrante AW, Chawla A. Macrophage-specific PPARgamma controls alternative activation and improves insulin resistance. *Nature*; 2007, 447: 1116-1120
212. Odegaard JI, Ricardo-Gonzalez RR, Red Eagle A, Vats D, Morel CR, Goforth MH, Subramanian V, Mukundan L, Ferrante AW, Chawla A. Alternative M2 activation of Kupffer cells by PPARdelta ameliorates obesity-induced insulin resistance. *Cell Metab*; 2008, 7: 496-507
213. Ogata A, Morishima A, Hirano T, Hishitani Y, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, Tanaka T. Improvement of HbA1c during treatment with humanised anti-interleukin 6 receptor antibody, tocilizumab. *Ann Rheum Dis*; 2011, 70: 1164-1165
214. Ohashi K, Parker JL, Ouchi N, Higuchi A, Vita JA, Gokce N, Pedersen AA, Kalthoff C, Tullin S, Sams A, Summer R, Walsh K. Adiponectin promotes macrophage polarization towards an anti-inflammatory phenotype. *J Biol Chem*; 2010, 285: 6153-6160
215. Ohno H, Shinoda K, Spiegelman BM, Kajimura S. PPARgamma agonists induce a white-to-brown fat conversion through stabilization of PRDM16 protein. *Cell Metab*; 2012, 15: 395-404
216. Oral EA, Simha V, Ruiz E, Andewelt A, Prekumar A, Snell P, Wagner AJ, DePaoli AM, Reitman ML, Taylor SI et al. Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. *New Eng J Med*; 2002, 346: 570-578
217. O'Rourke RW, Gaston GD, Meyer KA, White AE, Marks DL. Adipose tissue NK cells manifest an activated phenotype in human obesity. *Metabolism*; 2013, 62: 1557-1561
218. O'Rourke RW, Metcalf MD, White AE, Madala A, Winters BR, Maizlin II, Jobe BA, Roberts CT Jr, Slifka MK, Marks DL. Depot-specific differences in inflammatory mediators and a role for NK cells and INF-gamma in inflammation in human adipose tissue. *Int J Obes (Lond)*; 2009, 33: 978-990
219. Oświecimska J, Suwala A, Świetochowska E, Ostrowska Z, Gorczyca P, Ziora-Jakutowicz K, Machura E, Szczepańska M, Kukla M, Stojewska M, Ziora D, Ziora D.

- Serum omentin levels in adolescent girls with anorexia nervosa and obesity. *Physiol Res*; 2015, 64: 701-709
- 220.Ouchi N, Higuchi A, Ohashi K, Oshima Y, Gokce N, Shibata R, Akasaki Y, Shimono A, Walsh K. Srfp5 is an anti-inflammatory adipokine that modulates metabolic dysfunction in obesity. *Science*; 2010, 329: 454-457
- 221.Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*; 1999, 100(25): 2473-6
- 222.Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol*; 2003, 14: 561-6
- 223.Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*; 2011, 11: 85-97
- 224.Ozawa K, Miyazaki M, Matsuhisa M, Takano K, Nakatani Y, Hatazaki M, Tamatani T, Yamagata K, Miyagawa J, Kitao Y, Hori O, Yamasaki Y, Ogawa S.The endoplasmatic reticulum chaperone improves insulin resistance in type 2 diabetes. *Diabetes*; 2005, 54: 657-663
- 225.Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee A-H, Iwakoshi NN, Ozdelen E, Tuncman G, Görgün C, Glimcher LH, Hotamisligil GS. Endoplasmatic reticulum stress links obesity, insulin action and type 2 diabetes. *Science*; 2004, 306: 457-461
- 226.Ozcan U, Yilmaz E, Ozcan L, Furuhashi M, Vaillancourt E, Smith RO, Görgün CZ, Hotamisligil GS. Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes. *Science*; 2006, 313: 1137-1140
- 227.Pajvani UB, Du X, Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Schulthess T, Engel J, Brownlee M, Scherer PE. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem*; 2003, 278: 9073-9085
- 228.Pang C, Gao Z, Yin J, Zhang J, Jia W, Ye J. Macrophage infiltration into adipose tissue may promote angiogenesis for adipose tissue remodeling in obesity. *Am J Phys Endocrinol Metab*; 2008, 295: E313-E322
- 229.Papandreou I, Cairns RA, Fontana L, Lim AL, Denko NC. HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulating mitochondrial oxygen consumption. *Cell Metab*; 2006, 3: 187-97

230. Persichetti A, Sciuto R, Rea S, Basciani S, Lubrano C, Mariani S, Ulisse S, Nofroni I, Maini CL, Gnessi L. Prevalence, mass, and glucose-uptake activity of (1)(8)F-FDG-detected brown adipose tissue in humans living in a temperate zone of Italy. *PLoS One*; 2013, 8: e63391. doi:10.1371/journal.pone.0063391
231. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Garcia R, Shulman GI. Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*; 2004, 350: 664-671
232. Petersen KF, Oral EA, Dufour S, Befroy D, Ariyan C, Yu C, Cline GW, DePaoli AM, Taylor SI, Gorden P et al. Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. *J Clin Invest*; 2002, 109: 1345-1350
233. Pinerio R, Ingelsias MJ, Gallego R, Raghay K, Eiras S, Rubio J, Diéguez C, Gualillo O, González-Juanatey JR, Lago F. Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes. *FEBS Lett*; 2005, 579(23): 5163-9
234. Poggi M, Bastelica D, Gual P, Iglesias MA, Gremeaux T, Knauf C, Peiretti F, Verdier M, Juhan-Vague I, Tanti JF, Burcelin R, Alessi MC. C3H/HeJ mice carrying a toll-like receptor 4 mutation are protected against the development of insulin resistance in white adipose tissue in response to a high-fat diet. *Diabetologia*; 2007, 50: 1267-1276
235. Powell ED, Field RA. Studies on salicylates and complement in diabetes. *Diabetes*; 1966, 15(10): 730-733
236. Prieur X. Differential lipid partitioning between adipocytes and tissue macrophages modulates macrophage lipotoxicity and M2/M1 polarization in obese mice. *Diabetes*; 2011, 60: 797-809
237. Qatanani M, Szwegold NR, Greaves DR, Ahima RS, Lazar MA. Macrophage-derived human resistin exacerbates adipose tissue inflammation and insulin resistance in mice. *J Clin Invest*; 2009, 119: 531-539
238. Rangwala SM, Lazar MA. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma in diabetes and metabolism. *Trends Pharmacol Sci*; 2004, 25: 331-336
239. Rajala MW, Sherer PE. Minireview: the adipocyte at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology*; 2003, 144: 3765-3773
240. Rakhshandehroo M, Kalkhoven E, Boes M. Invariant natural killer T cells in adipose tissue: novel regulators of immune-mediated metabolic diseases. *Cell Mol Life Sci*; 2013, 70: 4711-4727
241. Rasouli N, Kern PA. Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*; 2008, 93(11): 64-73

- 242.Rausch ME, Weisberg S, Vardhana P, Tortoriello DV. Obesity in C57BL/6J mice is characterized by adipose tissue hypoxia and cytotoxic T-cell infiltration. *Int J Obes (Lond)*; 2008, 32: 451-63
- 243.Revollo JR, Korner A, Mills KF, Satoh A, Wang T, Garten A, Dasgupta B, Sasaki Y, Wolberger C, Townsend RR, Milbrandt J, Kiess W, Imai S. Nampt/PBEF/visfatin regulates insulin secretion in β cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab*; 2007, 6: 363-375
- 244.Rieusset J. Mitochondria and endoplasmatic reticulum: mitochondria-endoplasmatic reticulum interplay in type 2 diabetes pathophysiology. *Int J Biochem Cell Biol*; 2011, 43: 1257-1262
- 245.Rieusset J. Contribution of mitochondria and endoplasmic reticulum dysfunction in insulin resistance: Distinct or interrelated roles? *Diabetes Metab.*; 2015, 41: 358-68
- 246.Ritz P, Berrut G. Mitochondrial function, energy expenditure, aging and insulin resistance. *Diabetes Metab*; 2005, 31: 5S67-5S73
- 247.Rokyta R a kolektiv. Fyziologie a patologická fyziologie pro klinickou praxi. *Grada*; 2015
- 248.Rolff J, Siva-Jothy MT. Invertebrate ecological immunology. *Science*; 2003, 301: 472-475
- 249.Rong JX, Qiu Y, Hansen MK, Zhu L, Zhang V, Xie M, Okamoto Y, Mattie MD, Higashiyama H, Asano S, Strum JC, Ryan TE. Adipose mitochondrial biogenesis is suppressed in *db/db* and high-fat diet-fed mice and improved by rosiglitazone. *Diabetes*; 2007, 56: 1751-1760
- 250.Rosen ED, MacDougald OA. Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat Rev Mol Cell Biol*; 2006, 7: 885-896
- 251.Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P, Spiegelman BM. Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes Dev*; 2000, 14: 1293-1307
- 252.Russell WR, Gratz SW, Duncan SH, Holtrop G, Ince J, Scobbie L, Duncan G, Johnstone AM, Lobley GE, Wallace RJ, Duthie GG, Flint HJ. High-protein, reduced carbohydrate weight-loss promotes metabolite profiles likely to be detrimental to colonic health. *Am J Clin Nutr*; 2011, 93: 1062-72
- 253.Sabio G, Das M, Mora A, Zhang Z, Jun JY, Ko HJ, Barrett T, Kim JK, Davis RJ. A stress signaling pathway in adipose tissue regulates hepatic insulin resistance. *Science*; 2008, 322: 1539-1543

254. Sakai K, Matsumuo K, Nishikawa T, Suefuji M, Nakamaru K, Hirashima Y, Kawashima J, Shirotani T, Ichinose K, Brownlee M, Araki E. Mitochondrial reactive oxygen species reduce insulin secretion by pancreatic beta-cells. *Biochem Biophys Res Commun*; 2003, 300: 216-222
255. Samal B, Sun Y, Stearns G, Xie C, Suggs S, McNiece I. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony enhancing factor. *Mol Cell Biol*; 1994, 14(2): 1431-7
256. Saremi A, Asghari M, Ghorbani A. Effects of aerobic training on serum omentin-1 and cardiometabolic risk factors in overweight and obese men. *J Sports Sci*; 2010, 28: 993-998
257. Sartipy P, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci*; 2003, 100: 7265-7270
258. Satoh M, Andoh Y, Clingan CS, Ogura H, Fujii S, Eshima K, Nakayama T, Taniguchi M, Hirata N, Ishimori N, Tsutsui H, Onoé K, Iwabuchi K. Type II NKT cells stimulate diet-induced obesity by mediating adipose tissue inflammation, steatohepatitis and insulin resistance. *PLoS One*; 2012, 7: e30568
259. Satoh N, Shimatsu A, Hinneno A, Sasaki Y, Yamakage H, Yamada K, Suganami T, Ogawa Y. Unbalanced M1/M2 phenotype of peripheral blood monocytes in obese diabetic patients: effect of pioglitazone. *Diab Care*; 2010, 33: e7
260. Semenza G. Signal transduction to hypoxia –inducible factor 1. *Biochem Pharmacol*; 2002, 64: 993-8
261. Seriole B, Ferrone C, Cutulo M. Longterm anti-tumor necrosis factor- α in patients with refractory rheumatoid arthritis: relationship between insulin resistance and disease activity. *J Rheumatol*; 2008, 35: 355-357
262. Shaikh SR, Haas KM, Beck MA, Teague H. The effects of diet-induced obesity on B cell function. *Clin Exp Immunol*; 2015, 179: 90-99
263. Shang FJ, Wang JP, Liu XT, Zheng QS, Xue YS, Wang B, Zhao LY. Serum omentin-1 levels are inversely associated with the presence and severity of coronary artery disease in patients with metabolic syndrome. *Biomarkers*; 2011, 16: 657-62
264. Shaul ME, Bennett G, Striessel KJ, Greenberg AS, Obin MS. Dynamic, M2-like remodeling phenotypes of CD11c⁺ adipose tissue macrophages during high-fat-diet-induced obesity in mice. *Diabetes*, 2010, 59: 1171-1181

265. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest*; 2006, 116: 3015-3025
266. Shi X, Burkart A, Nicoloso SM, Czech MP, Straubhaar J, Corvera S. Paradoxical effect of mitochondrial respiratory chain impairment on insulin signaling and glucose transport in adipose cells. *J Biol Chem*; 2008, 283: 30658-30667
267. Schäffler A, Neumeier M, Herfarth H, Fürst A, Schölmerich J, Büchler C. Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue. *Biochim Biophys Acta*; 2005, 1732: 96-102
268. Schauer PR, Burguera B, Ikramuddin S et al. Effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass on type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg*; 2003, 238: 467-484
269. Schlutz O, Oberhauser F, Saech J, Rubbert-Roth A, Hahn M, Krone W, Laudes M. Effects of inhibition of interleukin-6 signalling on insulin sensitivity and lipoprotein (a) levels in human subjects with rheumatoid diseases. *PLoS ONE*; 2010, 5: e14328
270. Smitka V, Marešová D. Adipose tissue as an endocrine organ: an update on pro-inflammatory microenvironment. *Prague Medical Report*; 2015, 116: 87-111
271. Snel M, van Diepen JA, Stijnen T, Pijl H, Romijn JA, Meinders AE, Voshol P, Jazet IM. Immediate and long-term effects in addition of exercise to a 16-week very low calorie diet on low-grade inflammation in obese, insulin-dependent type 2 diabetic patients. *Food Chem Toxicol*; 2011, 49: 3104-11
272. Song MJ, Kim KH, Yoon JM, Kim JB. Activation of Toll-like receptor 4 is associated with insulin resistance in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*; 2006, 346: 739-745
273. Spencer LA, Szela CT, Perez SA, Kirchhoffer CL, Neves JS, Radke AL, Weller PF. Human eosinophils constitutively express multiple Th1, Th2, and immunoregulatory cytokines that are secreted rapidly and differentially. *J Leukoc Biol*; 2009, 85: 117-123
274. Spencer M, Finlin BS, Unal R, Zhu B, Morris AJ, Shipp LR, Lee J, Walton RG, Adu A, Erfani R, Campbell M, McGehee RE Jr, Peterson CA, Kern PA. Omega-3 fatty acids reduce adipose tissue macrophages in human subjects with insulin resistance. *Diabetes*; 2013, 62: 1709-1717
275. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Hoffmann K, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, Pfeiffer AF. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into cancer and nutrition (EPIC)-Postdam study. *Diabetes*; 2003, 52: 812-817

- 276.Srere PA. Citric acid cycle. *Methods Enzymol*; 1969, 13: 3-11
- 277.Staels B, Fruchart JC. Therapeutic roles of peroxisome proliferator activated receptor agonists. *Diabetes*; 2005, 54: 2460-2470
- 278.Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*; 2001, 409: 307-312
- 279.Stienstra R, Duval C, Keshtkar S, van der Laak J, Kersten S, Muller M. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation promotes infiltration of alternatively activated macrophages into adipose tissue. *J Biol Chem*; 2008, 283: 22620-22627
- 280.St-Pierre ML, Tremblay ML. Modulation of leptin resistance by protein tyrosine phosphatases. *Cell Metabolism*; 2012, 15: 292-297
- 281.Strissel KJ, Stancgeva Z, Miyoshi H, Perfield JW II, DeFuria J, Jick Z, Greenberg AS, Obin MS. Adipocyte death, adipose tissue remodeling, and obesity complications. *Diabetes*; 2007, 56: 2910-2918
- 282.Suganami T, Mieda T, Itoh M, Shimoda Y, Kamei Y, Ogawa Y. Attenuation of obesity-induced adipose tissue inflammation in C3H/HeJ mice carrying a Toll-like receptor 4 mutation. *Biochem Biophys Res Commun*; 2007, 354: 45-49
- 283.Suganami T, Tanimoto-Koyama K, Nishida J, Itoh M, Yuan X, Mizuarai S, Kotani H, Yamaoka S, Miyake K, Aoe S, Kamei Y, Ogawa Y. Role of the Toll-like receptor 4/NF-kappaB pathway in saturated fatty acid-induced inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 2007, 27: 84-91
- 284.Sun S, Ji Y, Kersten S, Qi L. Mechanisms of inflammatory responses in obese adipose tissue. *Ann Rev Nutr*; 2012, 32: 261-286
- 285.Surgeman HJ, Wolfe LG, Sica DA, Clore JN. Diabetes and hypertension in severe obesity and effects of gastric bypass-induced weight loss. *Ann Surg*; 2003, 237: 751-756
- 286.Sutherland LN, Capozzi LC, Turchinsky NJ, Bell RC, Wright DC. Time course of high-fat diet-induced reductions in adipose tissue mitochondrial proteins: potential mechanisms and the relationship to glucose intolerance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 2008, 295: E1076-1083
- 287.Suzuki YA, Shin K, Lonnerdal B. Molecular cloning and functional expression of a human intestinal lactoferrin receptor. *Biochemistry*; 2001, 40: 15771-15779

- 288.Szendroedi J, Phielix E, Roden M. The role of mitochondria in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*; 2011, 8: 92-103
- 289.Štípek S, Borovanský J, Čejková J, Homolka J, Klener P, Lukáš M, Špičák J, Tesař V, Zeman M, Zima T, Žák A. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci. *Grada*; 2000
- 290.Talukdar S, Oh da Y, Bandyopadhyay G, Li D, Xu J, McNelis J, Lu M, Li P, Yan Q, Zhu Y, Ofrecio J, Lin M, Brenner MB, Olefsky JM. Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase. *Nat Med*; 2012, 18: 1407-1412
- 291.Tan BK, Chen Jm Hu J, Amar O, Mattu HS, Ramanjaneya M, Patel V, Lehnert H, Randeve HS. Circulatory changes of the novel adipokine adipolin/CTRP12 in response to metformin treatment and oral glucose challenge in humans. *Clin Endocrinol*; 2014, 81: 841-846
- 292.Teshima Y, Takahashi N, Nishio S, Saito S, Kondo H, Fukui A, Aoki K, Yufu K, Nakagawa M, Saikawa T. Production of reactive oxygen species in the diabetic heart. Roles of mitochondria and NADPH oxidase. *Circ J*; 2014, 78(2):300-6
- 293.Todoric J, Löffler M, Huber J, Bilban M, Reimers M, Kadl A, Zeyda M, Waldhäusl W, Stulnig TM. Adipose tissue inflammation induced by high-fat diet in obese diabetic mice is prevented by n-3 polysaturated fatty acids. *Diabetologia*; 2006, 49: 2109-2119
- 294.Torti FM, Dieckmann B, Beutler B, Cerami A, Ringold GM. A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: an in vitro model of cachexia. *Science*; 1985, 229: 867-869
- 295.Toso C, Emamaullee JA, Merani S, Shapiro AM. The role of macrophage migration inhibitory factor on glucose metabolism and diabetes. *Diabetologia*; 2008, 51: 1937-46
- 296.Tormos KV, Anso E, Hamanaka RB, Eisenbart J, Joseph J, Kalyanaraman B, Chandel NS. Mitochondrial complex III ROS regulate adipocyte differentiation. *Cell Metab*; 2011, 14: 537-544
- 297.Toušková V, Trachta P, Kaválková P, Drápalová J, Haluzíková D, Mráz M, Lacinová Z, Marek J, Haluzík M. Serum concentrations and tissue expression of components of insulin-like growth factor-axis in females with type 2 diabetes mellitus and obesity: The influence of very-low-calorie diet. *Mol Cell Endocrinol*; 2012, 361: 172-78
- 298.Trachta P, Drápalová J, Kaválková P, Toušková V, Cinkajzlová A, Lacinová Z, Matoulek M, Zelinka T, Widimský J Jr., Mráz M, Haluzík M. Three months of regular aerobic exercise in patients with obesity improve systemic subclinical inflammation

- without major influence on blood pressure and endocrine production of subcutaneous fat. *Physiol Res*; 2014, 63: S299-S308
299. Tsuji S, Uehori J, Matsumoto M, Suzuki Y, Matsuhisa A, Toyoshima K, Seya T. Human intelectin is a novel soluble lectin that recognizes galactofuranose in carbohydrate chains of bacterial cell wall. *J Biol Chem*; 2001, 276: 23456-23463
 300. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Margini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*; 2006, 444: 1027-31
 301. Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature*; 1997, 389: 610-614
 302. Valerio A, Cardile A, Cozzi V, Bracale R, Tadesco L, Pisconti A, Palomba L, Cantoni O, Clementi E, Moncada S, Carruba MO, Nisoli E. TNF- α downregulates eNOS expression and mitochondrial biogenesis in fat and muscle of obese rodents. *J Clin Invest*; 2006, 116: 2791-2798
 303. Van Gaal LF, Wauters MA, De Leeuw LH. The beneficial effects of modest weight loss on cardiovascular risk factors. *Int J Obes*; 1997, 21: 5-9
 304. van Marken Lichtenbelt WD, Schrauwen P. Implications of nonshivering thermogenesis for energy balance regulation in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*; 2011, 301: R285-96
 305. Varma V, Yao-Borengasser A, Rasouli N, Bodles AM, Phanavanh B, Lee MJ, Starks T, Kern LM, Spencer III HJ, McGehee Jr RE, Fried SK, Kern PA. Human visfatin expression: relationship to insulin sensitivity, intramyocellular lipid and inflammation. *J Clin Endocrinol Metab*; 2007, 92: 666-672
 306. Vijgen GH, Bouvy ND, Hoeks J, Wijers S, Schrauwen P, van Marken Lichtenbelt WD. Impaired skeletal muscle mitochondrial function in morbidly obese patients is normalized one year after bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis*; 2013, 9: 936-41
 307. Vijgen GH, Bouvy ND, Teule GJ, Brans B, Hoeks J, Schrauwen P, van Marken Lichtenbelt WD. Increase in brown adipose tissue activity after weight loss in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab*; 2012, 97: E1229-33
 308. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev*; 2000, 21: 697-738
 309. Walker AW, Ince J, Duncan SH, Webster LM, Holtrop G, Ze X, Brown D, Stares MD, Scott P, Bergerat A, Louis P, McIntosh F, Johnstone AM, Lobley GE, Parkhill J, Flint

- HJ. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *ISME J*; 2011, 5: 220-30
- 310.Wang B, Wood IS, Trayhurn P. Dysregulation of the expression and secretion of inflammatory-related adipokines by hypoxia in human adipocytes. *Pflugers Arch*; 2007, 455: 479-92
- 311.Wang CH, Wang CC, Wei YH. Mitochondrial dysfunction in insulin insensitivity: implication of mitochondrial role in type 2 diabetes. *Ann NY Acad Sci*; 2010, 1201: 157-165
- 312.Wang PW, Kuo HM, Huang HT, Chang AY, Weng SW, Tai MH, Chuang JH, Chen IY, Huang SC, Lin TK, Liou CW. Biphasic response of mitochondrial biogenesis to oxidative stress in visceral fat of diet-induced obesity mice. *Antioxid Redox Signal*; 2014, 20: 2572-2588
- 313.Wang Q, Zhang M, Xu M, Gu W, Xi Y, Qi L, Li B, Wang W. Brown adipose tissue activation is inversely related to central obesity and metabolic parameters in adult human. *PLoS One*; 2015, 10:e0123795. doi: 10.1371/journal.pone.0123795. eCollection 2015.
- 314.Wang S, Soni KG, Semache M, Casavant S, Fortier M, Pan L, Mitchell GA. Lipolysis and the integrated physiology of lipid energy metabolism. *Mol Gen Metab*; 2008, 95: 117-126
- 315.Wang Y, Lam KS, Kraegen EW, Sweeney G, Zhang J, Tso AW, Chow WS, Wat NM, Xu JY, Hoo RL, Xu A. Lipocalin-2 is an inflammatory marker closely associated with obesity, insulin resistance, and hyperglycemia in humans. *Clin Chem*; 2007, 53: 34-41
- 316.Wei Z, Peterson JM, Lei X, Cebotaru L, Wolfgang MJ, Baldeviano GC, Wong GW. C1q/TNF-related protein 12 (CTRP12), a novel adipokine that improves insulin sensitivity and glycemic control in mouse models of obesity and diabetes. *J Biol Chem*; 2012, 287: 10301-10315
- 317.Weisberg SP, Hunter D, Huber R, Lemieux J, Slaymaker S, Vadii K, Charo I, Leibel RL, Ferrante AW Jr. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J Clin Invest*; 2006, 116: 115-24
- 318.Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*; 2003, 112: 1796-1808
- 319.Wesner DA, Wangkanont K, McBride R, Song X, Kraft MB, Hodges HL, Zarling LC, Splain RA, Smith DF, Cummings RD, Paulson JC, Forest KT, Kiessling LL.

- Recognition of microbial glycans by human intelectin-1. *Nat Struct Mol Biol*; 2015, 22: 603-10
320. Whelton PK, Appel LJ, Espeland MA, Applegate WB, Ettinger WH Jr, Kostis JB, Kumanyika S, Lacy CR, Johnson KC, Folmar S, Cutler JA. Sodium reduction and weight loss in the treatment of hypertension in older persons: a randomized controlled trial of nonpharmacological interventions in the elderly (TONE). TONE Collaborative Research Group. 1998; *J Am Med Assoc*; 279: 839-846
321. WHO, Health topics. Obesity. <http://www.who.int/topics/obesity/en>
322. Widlansky ME, Wang J, Shenouda SM, Hagen TM, Smith AR, Kizhakekuttu TJ, Kluge MA, Weihrauch D, Guterman DD, Vita JA. Altered mitochondrial membrane potential, mass, and morphology in the mononuclear cells of humans with type 2 diabetes. *Transl Res*; 2010, 156: 15-25
323. Wilson-Fritch L, Burkart A, Bell G, Mendelson K, Leszyk J, Nicoloso S, Czech M, Corvera S. Mitochondrial biogenesis and remodeling during adipogenesis and in response to the insulin sensitizer rosiglitazone. *Mol Cell Biol*; 2003, 23: 1085-1094
324. Wilson-Fritch L, Nicoloso S, Chouinard M, Lazar MA, Chui PC, Leszyk J, Straubhaar J, Czech MP, Corvera S. *J Clin Invest*; 2004, 114: 1281-1289
325. Winer DA, Winer S, Shen L, Wadia PP, Yantha J, Paltser G, Tsui H, Wu P, Davidson MG, Alonso MN, Leong HX, Glassford A, Caimol M, Kenkel JA, Tedder TF, McLaughlin T, Miklos DB, Dosch HM, Engleman EG. B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies. *Nat Med*; 2011, 17: 610-617
326. Winer S, Chan Y, Paltser G, Truong D, Tsui H, Bahrami J, Dorfman R, Wang Y, Zielenski J, Mastronardi F, Maezawa Y, Drucker DJ, Engleman E, Winer D, Dosch HM. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat Med*; 2009, 15: 921-929
327. Wing RR, Koeske R, Epstein LH, Nowak MP, Gooding W, Becker D. Long-term effects of modest weight loss in type II diabetic patients. *Arch Int Med*; 1987, 147(10): 1749-1753
328. Wong J, McLennan SV, Molyneaux L, Min D, Twigg SM, Yue DK. Mitochondrial DNA content in peripheral blood monocytes: relationship with age of diabetes onset and diabetic complications. *Diabetologia*; 2009, 52: 1953-1961

- 329.Wu D, Molofsky AB, Liang HE, Ricardo-Gonzalez RR, Jouihan HA, Bando JK, Chawla A, Locksley RM. Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. *Science*; 2011, 332: 243-247
- 330.Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease in mice. *J Clin Invest*; 2003, 112: 91-100
- 331.Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartagila LA, Hong C. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest*; 112: 1821-1830
- 332.Yagi K, Kondo D, Okazaki Y, Kano K. A novel preadipocyte cell line established from mouse adult mature adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*; 2004, 321: 967-974
- 333.Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med*; 2002, 8(11): 1288-95
- 334.Yamauchi T, Nio Y, Maki T, Kobayashi M, Takazawa T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kawamoto S, Kubota N, Kubota T, Ito Y, Kamon J, Tsuchida A, Kumagai K, Kozono H, HadaY, Ogata H, Tokuyama K, Tsunoda M, Ide T, Murakami K, Awatawa M, Takamoto I, Froguel P, Hara K, Tobe K, Nagai R, Ueki K, Kadowaki T. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat Med*; 2007, 13(3): 332-9
- 335.Yamawaki H, Kuramoto J, Kameshima S, Usui T, Okada M, Hara Y. Omentin, a novel adipocytokine inhibits TNF-induced vascular inflammation in human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*; 2011, 408: 339-343
- 336.Yamawaki H, Tsubaki N, Mukohda M, Okada M, Hara Y. Omentin, a novel adipokine, induces vasodilation in rat isolated blood vessels. *Biochem Biophys Res Commun*; 2010, 393: 668-672
- 337.Yan QW, Yang Q, Mody N, Graham TE, Hsu CH, Xu Z, Houstis NE, Khan BB, Rosen ED. The adipokine lipocalin 2 is regulated by obesity and promotes insulin resistance. *Diabetes*; 2007,56: 2533-2540

338. Yan P, Li L, Yang M, Liu D, Liu H, Boden G, Yang G. Effects of the long-acting human glucagon-like peptide-1 liraglutide on plasma omentin-1 levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*; 2011, 92: 368-74
339. Yan P, Liu D, Long M, Rem Y, Pang J, Li R. Changes of serum omentin levels and relationship between omentin and adiponectin concentrations in type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*; 2011, 119: 257-63
340. Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, Kotani K, Quadro L, Kahn BB. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Nature*; 2005, 436: 356-362
341. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, Shuldiner AR, Fried SK, McLenithan JC, Gong DW. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 2006, 290: E1253-61
342. Ye J, Gao Z, Yin J, He H. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 2007, 293: E1118-E1128
343. Ye S, Simon BA, Maloney JP, Zambelli-Weiner A, Gao L, Grant A, Easley RB, McVerry BJ, Tudor RM, Standiford T, Brower RG, Barnes KC, Garcia JG. Pre-B-cell colony-enhancing factor as a potential novel biomarker in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*; 2005, 171: 361-370
344. Yokomizo T, Izumi T, Chang K, Takuwa Y, Shinizu T. A G-protein-coupled receptor for leukotriene B₄ that mediates chemotaxis. *Nature*; 1997, 387: 620-4
345. Zeyda M, Farmer D, Todoric J, Aszmann O, Speiser M, Györi G, Zlabinger GJ, Stulnig TM. Human adipose tissue macrophages are of an anti-inflammatory phenotype but capable of excessive pro-inflammatory mediator production. *Int J Obes* ; 2007, 31: 1420-8
346. Zhang J, Wu Y, Zhang Y, Leroith D, Bernlohr DA, Chen X. The role of lipocalin 2 in the regulation of inflammation in adipocytes and macrophages. *Mol Endocrinol*; 2008, 22: 1416-1426
347. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*; 1994, 372: 425-432
348. Zharikov S, Shiva S. Platelet mitochondrial function: from regulation of thrombosis to biomarker of disease. *Biochem Soc Trans*; 2013, 41: 118-23

- 349.Zhou JY, Chan L, Zhou SW. Omentin: linking metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Curr Vasc Pharmacol*; 2014, 12: 136-143
- 350.Zhu W, Cheng KKY, Vanhoutte PM, Lam KSL, Xu A. Vascular effects of adiponectin: molecular mechanism and potential therapeutic intervention. *Clin Sci (Lond)*; 2008, 114: 361-374
- 351.Zu L, He J, Jiang H, Xu C, Pu S, Xu G. Bacterial endotoxin stimulates adipose lipolysis via toll-like receptor 4 and extracellular signal-regulated kinase pathway. *J Bio Chem*; 2009, 284: 5915-5926
- 352.Zvolský M. Činnost oboru diabetologie, péče o diabetiky v roce 2013. ÚZIS; 2015, www.uzis.cz/system/files/ai_2015_02.pdf

12 PŘÍLOHY

12.1 Plné texty vlastních publikací tvořící podklady dizertační práce

- Urbanová M, Mráz M, Ďurovcová V, Trachta P, Kloučková J, Kaválková P, Haluzíková D, Lacinová Z, Hansíková H, Wenchich L, Kršek M, Haluzík M. The effect of very-low-calorie diet on mitochondrial dysfunction in subcutaneous adipose tissue and peripheral monocytes of obese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Physiol Res.*; 2017, Jul 18 [Epub ahead of print]
- Urbanová M, Dostálová I, Trachta P, Drápalová J, Kaválková P, Haluzíková D, Matoulek M, Lacinová Z, Mráz M, Kasalický M, Haluzík M. Serum concentrations and subcutaneous adipose tissue mRNA expression of omentin in morbid obesity and type 2 diabetes mellitus: the effect of very-low-calorie diet, physical activity and laparoscopic sleeve gastrectomy. *Physiol Res.*; 2014, 63: 207-18

12.2 Další publikace

a) s impact factorem

- Mlcoch T, Sedova L, Stolfá J, Urbanova M, Suchy D, Smrzova A, Jircikova J, Pavelka K, Dolezal T. Mapping the relationship between clinical and quality-of-life outcomes in patients with ankylosing spondylitis. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*; 2017, 17: 203-211 IF 1.78
- Trachta P, Dostálová I, Haluzíková D, Kasalický M, Kaválková P, Drápalová J, Urbanová M, Lacinová Z, Mráz M, Haluzík M. Laparoscopic sleeve gastrectomy ameliorates mRNA expression of inflammation-related genes in subcutaneous adipose tissue but not in peripheral monocytes of obese patients. *Mol Cell Endocrinol*; 2014, 383: 96-102 IF 3.75
- Kavalkova P, Touskova V, Roubicek T, Trachta P, Urbanova M, Drapalova J, Haluzikova D, Mráz M, Novak D, Matoulek M, Lacinova Z, Haluzik M. Serum preadipocyte factor-1 concentrations in females with obesity and type 2 diabetes mellitus: the influence of very low calorie diet, acute hyperinsulinemia and fenofibrate treatment. *Horm Metab Res*; 2013, 45: 820-6 IF 2.67

b) bez impact factoru

- Urbanová M, Haluzík M. Úloha tukové tkáně v patogenezi diabetes mellitus 2. typu. *Cesk Fyziol*; 2015, 64: 73-8
- Urbanová M, Haluzík M. Diabetes a nádory. *Postgraduální medicína*; 2012, 4: 52-57
- Urbanová M, Haluzík M. Diabetes a nádorová onemocnění. *DMEV*; 2011, 3: 121-128
- Olejárová M, Jarošová K, Moravcová R, Tomčík M, Urbanová M. Revmatologie v obrazech. *Mladá fronta*; 2016
- Ciferská H, Urbanová M, Zegzulková K. Biologická léčba revmatoidní artritidy – shrnutí pro klinickou praxi. *Medicína po promoci*; 2016, 3: 270-280
- Ciferská H, Šedová L, Urbanová M. Role adalimumabu v terapii autoimunitních onemocnění. *Medicína po promoci*; 2016, 2: 171-175
- Ciferská H, Urbanová M, Moravcová R. Využití golimumabu v terapii revmatoidní artritidy a ankylozující spondylitidy. *Acta medicae*; 2015, 11: 29-32
- Ciferská H, Urbanová M. Biosimilars v terapii zánětlivých revmatických onemocnění. *Klinická farmakologie a farmakoterapie*; 2015, 3: 124-128
- Ciferská H, Urbanová M, Šedová L. Imunogenicita inhibitoru TNF α – zaměřeno na etanercept. *Acta medicae*; 2015, : 62-65
- Ciferská H, Urbanová M. Subkutánní tocilizumab v léčbě revmatoidní artritidy. *Remedia*; 2015, 1: 68-74
- Ciferská H, Urbanová M, Moravcová R. Postavení biologické terapie v léčbě revmatoidní artritidy. *Acta medicae*; 2015, 1: 69-73
- Olejárová M, Urbanová M, Bečvář R, Forejtová Š, Jarošová K, Mann H, Moravcová R, Šedová L, Šenolt L, Šléglová O, Štolfa J, Tegzová D, Tomčík M. Zpráva z kongresu EULAR. *Česká revmatologie*; 2014, 3: 117-124
- Haluzík M, Trachta P, Urbanová M. Linagliptin v léčbě diabetu v roce 2012 – novinky a perspektivy. *Farmakoterapie*; 2012, 4: 390-395
- Haluzík M, Urbanová M, Trachta P. Antidiabetika a kardiovaskulární riziko – dříve a nyní. *Kardiologická revue*; 2012, 3: 149-152

- Anderlová K, Mráz M, Urbanová M, Haluzík M. Algoritmus terapie diabetes mellitus 2. typu. *Postgraduální medicína*; 2012, 3: 23-31
- Haluzík M, Trachta P, Urbanová M. Perorální antidiabetika v léčbě diabetes mellitus 2. typu. *Kapitoly z kardiologie pro praktické lékaře*; 2012, 2: 57-63
- Haluzík M, Urbanová M, Haluzíková D, Trachta P. Patofyziologické podklady inkretinové léčby: dokáže ještě více, než si myslíme? *Vnitřní lékařství*; 2011, 11: 897-902
- Haluzík M, Urbanová M, Trachta P. Léčba diabetes mellitus 2. typu GLP-1 agonisty. *Vnitřní lékařství*; 2011, 4: 411-415